

Aus der Blutbank
der Freien Universität Berlin
im Klinikum Charlottenburg

Leiter: Professor Dr. med. Immo Hoppe

Kinetik ¹¹¹Indiumoxin markierter Blutplättchen
in vivo. Untersuchung an hämatologisch Gesunden
und Patienten mit Thrombozytenumsatzstörungen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Kniffert
aus Berlin

1984

Aus der Blutbank
der Freien Universität Berlin
im Klinikum Charlottenburg

Leiter: Professor Dr. med. Immo Hoppe

Kinetik ¹¹¹Indiumoxin markierter Blutplättchen
in vivo. Untersuchung an hämatologisch Gesunden
und Patienten mit Thrombozytenumsatzstörungen

Inaugural-Dissertation
zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Kniffert
aus Berlin

1984

Referent: Prof. Dr. med. I. Hoppe

Korreferent: Prof. Dr. med. H. Brücher

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 23.3.84

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1.0. Einleitung	4
2.0. Material und Methoden	9
2.1. Material	9
2.2. Methoden	10
2.2.1. Präparation des $^{111}\text{Indiumoxin}$	10
2.2.2. Kalibrierung des $^{111}\text{Indiumoxin}$	11
2.2.3. Isolierung der Thrombozyten	12
2.2.4. Markierung der Thrombozyten	12
2.2.5. Bestimmung des Markierungseffektes	14
2.2.6. Entnahme und Aufarbeitung der Blutproben	15
2.2.7. Bestimmung der Thrombozytenüberlebenszeit	16
2.2.8. Bestimmung des Recovery	16
2.2.9. Szintigraphie mit der Angerkamera	17
2.2.10. Oberflächenaktivitätsmessungen am Funktions- meßplatz	17
2.2.11. Bestimmung des Abbauortes und Berechnung der Überschußimpulse	18
3.0. Ergebnisse	20
3.1. Untersuchung von hämatologisch Gesunden	20
3.2. Untersuchung von Patienten mit Thrombozyten- umsatzstörungen	24
4.0. Diskussion	31
5.0. Zusammenfassung	38
6.0. Tabellen	40
7.0. Abbildungen	42
8.0. Literatur	60
9.0. Danksagung	70
10.0. Lebenslauf	71

1.0. Einleitung

Die Blutplättchen nehmen innerhalb des Systems der Hämostase eine wichtige Schlüsselstellung ein. So gehen 80-90 % aller hämorrhagischen Diathesen auf Thrombozytopenien zurück (10). Wesentliche pathogenetische Ursachen von Thrombozytopenien sind hereditäre oder erworbene Störungen der Thrombopoese (Bildungsstörungen), vermehrter Abbau der Plättchen durch immunologische und parainfektiose Mechanismen, mechanische Schädigung oder intravasale Gerinnungsvorgänge (Umsatzstörungen) sowie Störungen in der Verteilung der zirkulierenden Plättchen, z.B. beim Hypersplenismus (innerhalb der Umsatzstörungen auch als Verteilungsstörungen bezeichnet)(11,12).

Die Markierung der Thrombozyten mit radioaktiven Substanzen erlaubt die Bestimmung ihrer Überlebenszeit und ihres Abbau- bzw. Sequestrationsortes. Zusammen mit den Blut- und Knochenmarksbefunden sowie serologischen Parametern wird so eine Differenzierung zwischen diesen klinischen Formen des Plättchenmangels möglich. Eine Thrombozytopenie mit normaler Überlebenszeit der markierten Plättchen bei hypo- bzw. amegakaryozytärem Knochenmark spricht für eine Bildungsstörung, eine Thrombopenie mit verkürzter Überlebenszeit, zahlreichen Riesenthrombozyten im peripheren Blut bei hypermegakaryozytärem Mark für eine Umsatzstörung (36).

Bei einer geringen Verteilungsstörung ist die Überlebenszeit annähernd normal, die Megakaryozytendichte im Knochenmark ist nicht erhöht. Stark ausgeprägte Verteilungsstörungen gehen mit einer erheblichen Thrombopenie und deutlich verkürzter Überlebenszeit einher, die Megakaryozytendichte im Knochenmark ist vermehrt (36).

Der serologische Nachweis von thrombozytären Antikörpern ist, obwohl an ihrer Existenz und ihrer pathogenetischen Wirksamkeit kein Zweifel besteht, nach wie vor schwierig und erlaubt keineswegs immer eine Differentialdiagnose des Plättchenmangels (38,39).

Weitere differentialdiagnostische Hinweise ergeben sich daher aus der Beobachtung des zeitlichen Verlaufs der Oberflächenaktivitäten über Milz und Leber. Bei Patienten mit idiopathischer thrombozytopenischer Purpura (ITP) ist die Milz der häufigste Abbauort der immunologisch vorgeschädigten Plättchen, gefolgt von einem gemischt lienal-hepatischen Abbau. Der rein hepatische Abbautyp ist selten (46). Die Milz ist in der Regel nicht vergrößert (39). Bei den Verteilungsstörungen durch erhöhte Einlagerung (Pooling) der Plättchen in die vergrößerte Milz (4) ist die initiale Aktivitätsaufnahme zwar hoch, danach folgt jedoch kein nennenswerter weiterer Anstieg der Oberflächenaktivitäten (7). Eine ätiologisch exakte Differenzierung der bekannten Thrombozytopenien ist nicht zuletzt wegen der unterschiedlichen therapeutischen Konsequenzen und der Prognose wichtig.

Bei der Thrombozytenmarkierung unterscheidet man grundsätzlich zwischen in-vitro Methoden, bei denen die Plättchen isoliert, mit dem Marker inkubiert und reinjiziert werden, und in-vivo Methoden, bei denen die Markierungssubstanz direkt durch intravenöse Injektion gegeben wird.

Folgende Substanzen sind in der Vergangenheit hauptsächlich verwendet worden:

^{14}C -Serotonin,
 ^{32}P als Orthophosphat und Diisopropylfluorophosphat (DFP),
 ^{51}Cr -Dinatriumchromat,
 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Pertechnetat,
 seit kurzem ^{111}In diumoxin.

Nicht alle diese Substanzen erfüllen die Forderungen, die man an einen idealen Plättchenmarker stellen muß (nach MARISS, 37; ZUM WINKEL, 56):

1. Hohe Spezifität und Affinität zu den Thrombozyten, zur Erzielung hoher Markierungseffekte
2. Keine Elution aus den markierten Plättchen
3. Keine Reutilisation von freigesetztem Marker durch primär nicht markierte Plättchen
4. Keine Toxizität für die markierten Zellen und den lebenden Organismus
5. Angemessene Halbwertszeit im Verhältnis zur Lebensdauer der Thrombozyten
6. Möglichkeit von externen Szintillationsmessungen

Die folgende Tabelle stellt die wichtigsten Eigenschaften der bisher erwähnten radioaktiven Marker zusammen (Tab.1).

Von den Plättchenmarkern ^{14}C -Serotonin, ^{32}P -Orthophosphat und ^{32}P -Diisopropylfluorophosphat ist bekannt, daß sie durch Elution, Schädigung der Plättchen, Beteiligung am Plättchenstoffwechsel und Reutilisation nach Untergang der initial markierten Zellen die Überlebenszeitkurve verfälschen (5,8,9,15, 20,26,27,54). Als ausschließliche β -Strahler erlauben sie zudem keine externen Organmessungen zur Bestimmung des Abbauortes.

Der in der Vergangenheit am häufigsten verwandte Marker ist ^{51}Cr -Dinatriumchromat. Nachteilig ist seine geringe Spezifität. Na_2CrO_4 weist eine hohe Affinität zu den Erythrozyten auf, so daß die Thrombozyten vor ihrer Markierung in möglichst reiner Suspension gewonnen werden müssen (14).

Die Affinität zu den Plättchen ist niedrig, der Markierungseffekt liegt zwischen 2-24 % (6). Innerhalb der ersten 15 Minuten werden 20-25 % der Aktivität wieder aus den Plättchen abgegeben (1), ob danach noch eine weitere Elution oder Reutilisation erfolgt, ist nicht geklärt. Dinatriumchromat hat möglicherweise eine toxische Wirkung auf die Plättchen, da es deren in-vitro Funktionen beeinträchtigt (30). Die Halbwertszeit ist mit 27 Tagen, gemessen an der Plättchenüberlebenszeit,

zu lang und erlaubt keine Nachuntersuchung in kurzem Abstand. Die geringe Ausbeute an Gammaquanten von nur 9 % bei 320 KeV beeinträchtigt die Zählstatistik.

^{99m}Tc -Pertechnetat hat eine gute Affinität zu den Thrombozyten, die Elution ist nur gering (53). Die kurze Halbwertszeit von nur 6 Stunden erlaubt jedoch keine sichere Bestimmung der Plättchenüberlebenszeit. Auf Grund seiner hohen Gammaquantenemission hat es jedoch Einsatz beim Nachweis von Thrombosen und vaskulären Läsionen gefunden (19,33).

$^{111}\text{Indium}$ bildet mit 8-Hydroxychinolin (Oxin) einen nicht-polaren, lipidlöslichen Komplex (48). Dieser markiert jedoch nicht nur Thrombozyten, sondern auch Erythrozyten, Granulozyten und Lymphozyten (2,35,45,49,50,51), so daß auch hier die Plättchen vor ihrer Markierung in möglichst reiner Suspension gewonnen werden müssen.

Es ermöglicht von allen bekannten Markern den höchsten Markierungseffekt. Er beträgt im Mittel, bei Markierung im Plasma, 55 % (43). Einige Autoren erzielen in plasmafreien Medien noch höhere Markierungsausbeuten, bis über 90 % (21,55). Allerdings scheint Plasma nötig zu sein, um die Lebensfähigkeit der Plättchen zu erhalten (13,18,42). Die Aufnahme des Indiumkomplexes ist ein aktiver Prozeß und erfordert neben einem intakten Zellmetabolismus eine erhaltene Aggregationsfähigkeit (40).

Ein weiterer Vorteil des ^{111}In ist die hohe Gammaquantenemission von 84 % bei 173 KeV und 94 % bei 247 KeV, die eine gute Zählstatistik erlaubt. Darüber hinaus werden Aufnahmen mit der Gammakamera möglich, die ein differenziertes Bild der Plättchenverteilung geben.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung eines Kollektivs von hämatologisch Gesunden und von Patienten mit Thrombozytenumsatzstörungen.

Dabei sollten vor allem folgende Fragen geklärt werden:



1. Die Eignung der Methode für die Markierung in Blutbeuteln, wie sie im Transfusionswesen in Gebrauch sind.
Die bisherigen Untersucher benutzten vorwiegend kleinere Blutvolumina um 50 ml und markierten die Plättchen in Plastikzentrifugenröhrchen. Insbesondere bei thrombo-
penischen Patienten erscheint es jedoch sinnvoll, zur Steigerung der Thrombozytenausbeute und damit der statistischen Sicherheit von größeren Blutvolumina auszugehen. In einem geschlossenen Beutelsystem läßt sich darüber hinaus eine größere Sterilität wahren.
2. Die Möglichkeit der Vereinfachung der Arbeitsschritte bei der Aufarbeitung der Blutproben zur Bestimmung der Überlebenszeit.
So sollte untersucht werden, ob ein signifikanter Unterschied der Überlebenszeit bei Messung der nicht aufgearbeiteten Vollblutproben, im Gegensatz zu den durch verschiedene Zentrifugations- und Wasch- bzw. Hämolyseschritte gewonnenen reinen Thrombozytenkonzentraten, besteht.
3. Das Verhalten der Plättchen im Organismus hämatologisch Gesunder während der Anfangsphase der Verteilung und über den Zeitraum der normalen Plättchenüberlebenszeit, insbesondere Messungen über den Organen Milz und Leber zur Darstellung des normalen Abbau- bzw. Sequestrationsverhaltens.
4. Die Anwendbarkeit der Thrombozytenüberlebenszeit- und Abbauortbestimmung bei Patienten mit Thrombozytenumsatzstörungen, insbesondere in Hinblick auf differentialdiagnostische Gesichtspunkte und therapeutische Empfehlungen (Splenektomie).

2.0. Material und Methoden

2.1. Material

Acetatpuffer, 0,3 n, pH 5,4

(0,3 n Natriumacetatlösung mit Essigsäure auf einen pH von 5,4 einstellen, unter kontinuierlicher Messung mit einer pH-Elektrode)

ACD-A-Stabilisator nach U.S.P. XIX

Biotest Serum Institut,
Frankfurt a. Main

(Natriumcitrat·2H₂O: 22,0 g; Citronensäure: 7,3 g; Glucosemonohydrat: 24,5 g; Aqua ad iniec. ad 1 000 ml)

Äthanol reinst

Merck, Darmstadt

Ammoniumoxalatlösung, 1 %

Merck, Darmstadt

Chloroform reinst

Merck, Darmstadt

8-Hydroxychinolin (Oxin)

Merck, Darmstadt

¹¹¹Indiumchlorid in steriler wässriger Lösung (pH-Wert 6,5-7,5)

Amersham Buchler,
Braunschweig

0,9 % Natriumchloridlösung

Braun, Melsungen

2.2. Methoden

2.2.1. Präparation des $^{111}\text{Indiumoxin}$ ¹⁾ nach den Angaben von THAKUR (50)

- a. Zu 1 mCi (37 MBq) $^{111}\text{Indiumchlorid}$ in steriler wässriger Lösung (pH-Wert 6,5-7,5) werden 0,4 ml 0,3 n Acetatpuffer gegeben und durchgeschüttelt (Wirlimix).
- b. Zur Bildung des Komplexes werden 150 μl 8-Hydroxychinolin (Oxin) in Äthanol reinst hinzugefügt, das entstehende Gemisch durchgeschüttelt und 15 Minuten bei Raumtemperatur stehengelassen.
- c. Zur Extraktion des $^{111}\text{Indiumoxin}$ werden 1,5 ml Chloroform dazugegeben, ausgeschüttelt und der sich unten absetzende Chloroformextrakt mit einer langen Kanüle und Einwegspritze abgezogen. Der Vorgang wird nach Zugabe von weiteren 1,5 ml Chloroform wiederholt.
- d. Die Chloroformextrakte werden in einem Zentrifugenglasröhrchen gesammelt und nacheinander in zwei weitere Glasröhrchen umgeschüttet, um restliches Wasser zu entfernen (Wasser haftet an der Glasoberfläche).
- e. Das offene Glasröhrchen mit dem $^{111}\text{Indiumoxin}$ in Chloroform wird bei 60°C im Wasserbad (Köttermann) vorsichtig eingedampft (Gefahr des Überkochens!).
- f. Der trockene Rückstand wird in 100 μl Äthanol reinst gelöst und langsam mit 300 μl 0,9 % Natriumchloridlösung verdünnt.
- g. Zur Kalibrierung werden 10 μl dieser $^{111}\text{Indiumoxin}$ lösung mit 990 μl Äthanol auf 1 000 μl verdünnt (1:100). Jeweils 10 μl dieser Verdünnung werden im automatischen Bohrlochprobenwechsler (Berthold, BF 5001) gemessen.

¹⁾ Mittlerweile kommerziell erhältlich bei Amersham Buchler, Braunschweig und Byck Mallinkrodt, Petten (Holland).

2.2.2. Kalibrierung des $^{111}\text{Indiumoxin}$

Zur Bestimmung der zu verabreichenden Dosis muß die $^{111}\text{Indiumoxin}$ lösung kalibriert werden.

- a. 10 μl der $^{111}\text{Indiumchlorid}$ stammlösung werden mit 990 μl H_2O auf 1 000 μl verdünnt (1:100).
- b. Aus dieser Verdünnung werden jeweils 10 μl (entspricht 0,1 μl der Stammlösung) in ein Plastikzentrifugenröhrchen pipettiert und im automatischen Bohrlochprobenwechsler (Berthold, BF 5001) gemessen. Aus 10 Meßdaten wird der Mittelwert gebildet. Dieser Wert entspricht der Aktivität von 0,1 μCi $^{111}\text{Indium}$ (1 ml der $^{111}\text{Indiumchlorid}$ stammlösung enthält 1 mCi ^{111}In).

Hier entsprachen 900 000 cpm einer Aktivität von 1 μCi ^{111}In (gilt nur für den verwendeten Bohrlochprobenwechsler).

- c. 10 μl der $^{111}\text{Indiumoxin}$ verdünnung aus 2.2.1.g. (entspricht 0,1 μl $^{111}\text{Indiumoxin}$ lösung) werden im Bohrlochprobenwechsler gemessen, der gefundene Wert zu dem o.g. ins Verhältnis gesetzt und damit die Aktivität der $^{111}\text{Indiumoxin}$ lösung ermittelt.

Berechnungsbeispiel:

$$0,1 \mu\text{l der } ^{111}\text{Indiumoxinlösung} = 576\,040 \text{ cpm}$$

$$\frac{576\,040}{900\,000} = 0,64$$

0,1 μl der $^{111}\text{Indiumoxin}$ lösung enthält demnach 0,64 μCi .

2.2.3. Isolierung der Thrombozyten

Alle Zentrifugationsschritte erfolgten in einer Kühlzentrifuge (Sorval, RC-3) bei 20° C. Um ein Ausreißen der Beutel zu verhindern, standen diese dabei in einem Wasserpolster. Zur Vermeidung von Turbulenzen beim Auslaufen der Zentrifuge wurde auf die Benutzung der Bremse verzichtet.

- a. Entnahme von 200-400 ml Blut (je nach Zustand des Patienten und der Plättchenzahl) in einen ACD-A-Doppelbeutel, dessen Stabilisatorgehalt so reduziert wurde, daß auf 100 ml Blut 15 ml ACD-A entfielen.
- b. Beutel 15 Minuten bei 300 g zentrifugieren.
- c. Plättchenreiches Plasma (PRP) in den Satellitenbeutel überpressen, unter strikter Vermeidung einer Kontamination mit Erythrozyten. Der Primärbeutel wird abgeklemt und mit dem in ihm verbleibenden Erythrozytenkonzentrat verworfen.
- d. Zur Vermeidung einer Plättchenaggregation Einstellen des pH im Satellitenbeutel auf 6,5 durch Zugabe von ACD-A, je 10 ml PRP 1 ml ACD-A.
- e. Beutel mit PRP 15 Minuten bei 1 500 g zentrifugieren.
- f. Anschluß eines weiteren Leerbeutels, plättchenarmes Plasma (PAP) bis auf einen Rest von 2 ml überpressen, Verbindungsschlauch abklemmen, Thrombozytensediment im Satellitenbeutel resuspendieren.

2.2.4. Markierung der Thrombozyten

- a. Die ¹¹¹Indiumoxidlösung in eine 1 ml Spritze aufziehen, max. 1 mCi (37 MBq), und unter ständigem Mischen zum Thrombozytenkonzentrat geben (Beutel dazu umdrehen, so daß die Kanüle der Spritze im Thrombozytenkonzentrat zu liegen kommt).

- b. Beutel im Rüttler bei leicht schaukelnder Bewegung 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- c. Das PAP aus dem anhängenden Beutel bis auf einen Rest von ca. 30 ml in den Satellitenbeutel zurückführen, die Thrombozyten darin weiter suspendieren.
- d. Den Beutel mit den markierten Plättchen 15 Minuten bei 1 500 g zentrifugieren.
- e. Das überstehende, freies ¹¹¹Indiumoxin enthaltene Plasma in einen Meßzylinder abpressen, zur Bestimmung des Markierungseffektes das Volumen notieren und aus dem Meßzylinder 0,1 ml in ein Zentrifugenröhrchen pipettieren (Waschlösung).
- f. Zu dem Plättchenkonzentrat weitere 20 ml PAP aus dem anhängenden Beutel zugeben und den verklumpten Thrombozytensatz in Suspension bringen.
- g. Das Plättchenkonzentrat durch den Schlauch des Beutels in eine Spritze aufziehen. Vor Injektion visuell auf Aggregate kontrollieren.
- h. Den Restinhalt des Beutels in ein Zentrifugenröhrchen geben, daraus zur Bestimmung des Markierungseffektes

0,1 ml in ein Zentrifugenröhrchen pipettieren (Standard A),

in einem weiteren Zentrifugenröhrchen 0,1 ml des Plättchenkonzentrates mit 2 ml 1 % Ammoniumoxalatlösung mischen, zur Hämolyse etwa vorhandener Erythrozyten 10 Minuten stehen lassen und dann 20 Minuten bei 1 500 g zentrifugieren. Der Überstand wird verworfen, das Sediment repräsentiert die reine thrombozytenggebundene Aktivität (Standard B).

2.2.5. Bestimmung des Markierungseffektes

Waschlösung, Standard A und Standard B werden im Bohrlochprobenwechsler gemessen, aus den erhaltenen Werten der Markierungseffekt berechnet:

$$\text{cpm St. A} \times V_1 + \text{cpm W} \times V_2 = G_x$$

$$\frac{\text{cpm St. B} \times V_1 \times 100}{G_x} = M_x$$

cpm St. A = Impulse pro Minute des Standards A

cpm St. B = " " " " " B

cpm W = " " " der Waschlösung

V_1 = Volumen der markierten Plättchensuspension

V_2 = " " Waschlösung

G_x = Gesamte, für die Markierung eingesetzte Aktivität

M_x = Markierungseffekt in % der eingesetzten Gesamtaktivität

2.2.6. Entnahme und Aufarbeitung der Blutproben

Nach i.v. Injektion der markierten Plättchen wurden die Blutproben am kontralateralen Arm des Probanden entnommen, und zwar jeweils nach 5, 10, 15, 20, 30, 45 und 60 Minuten. Als Antikoagulans diente ACD-A, 2 ml auf 8 ml Vollblut. Der Zeitpunkt weiterer Blutentnahmen wurde nach dem Abfall der thrombozytengebundenen Aktivität bestimmt, bis 10 % der Ausgangsaktivität erreicht waren.

Zur Bestimmung der Überlebenszeit wurden die Blutproben weiter aufgearbeitet:

- a. 1 ml Blut für die Ermittlung des Blutwertes in ein Plastikröhrchen pipettieren. Der Blutwert repräsentiert die thrombozytengebundene Aktivität, die Aktivität evt. mitmarkierter Erythrozyten sowie die Aktivität von freiem, nicht an Zellen gebundenem ¹¹¹Indiumoxin.
- b. Die restlichen 9 ml Blut mit 3 ml 0,9 % Natriumchloridlösung auffüllen, mischen und 7 Minuten bei 300 g zentrifugieren.
- c. Plättchenreichen Überstand in ein Plastikröhrchen pipettieren. Das Erythrozytensediment mit 3 ml 0,9 % Natriumchloridlösung resuspendieren und wieder bei 300 g 7 Minuten zentrifugieren.
- d. Überstand einschließlich "buffy coat" (oberste Schicht auf dem Erythrozytensediment) mit dem ersten Überstand poolen und 20 Minuten bei 1 500 g zentrifugieren. Überstand verwerfen.
- e. Sediment zur Hämolyse von miterfaßten Erythrozyten in 5 ml 1 % Ammoniumoxalatlösung resuspendieren und 10 Minuten inkubieren.
- f. Dann 20 Minuten bei 1 500 g zentrifugieren, den Überstand verwerfen. Das Sediment dient der Ermittlung des Thrombozytenwertes, der die reine, an Thrombozyten gebundene Aktivität repräsentiert.

Alle Proben wurden gesammelt und zum gleichen Zeitpunkt nacheinander im automatischen Bohrlochprobenwechsler gemessen, um den Einfluß des physikalischen Zerfalls zu eliminieren.

2.2.7. Thrombozytenüberlebenszeitbestimmung

Die Auswertung der Meßwerte erfolgte getrennt für die sog. Blutwerte bzw. Thrombozytenwerte.

Die Meßwerte wurden graphisch aufgetragen und durch die Punkte eine Gerade konstruiert. An Hand dieser Geraden wurde der Zeitpunkt des Abfalls der Ausgangsaktivität auf 10 % und 0 % (Schnittpunkt der Geraden mit der Zeitachse) ermittelt.

Für die Bestimmung der biologischen Halbwertszeit $t_{1/2}$ wurden für die Konstruktion der Geraden nur die ersten, dem linearen Abfall der Überlebenszeitkurve folgenden Meßwerte benutzt und der Abfall der Ausgangsaktivität auf 50 % ermittelt.

Zusätzlich wurden die Meßwerte in einen Rechner eingegeben und die sog. gewichtete mittlere Überlebenszeit (29) berechnet.

2.2.8. Bestimmung des Recovery

Der Recovery gibt die zu einem bestimmten Zeitpunkt wiedergefundene thrombozytengebundene Aktivität N_t im peripheren Blut des Probanden in Prozent der injizierten Gesamtaktivität N_0 an. Er wurde wie folgt berechnet:

$$N_0 = \text{cpm Standard B} \times 10 \times \text{injiziertes Volumen in ml}$$

$$N_t = \frac{\frac{\text{cpm Thrombozytenwert}}{\text{ml aufgearbeitetes Blut}} \times 100 \times \text{Blutvolumen in ml}}{N_0}$$

Hier wurde als Thrombozytenwert der Wert 20 - 30 Minuten nach Injektion der markierten Thrombozyten verwandt. Das Blut-

volumen wurde auf Grund des Körpergewichtes bestimmt (70 ml Blut/Kg Körpergewicht) (28).

2.2.9. Szintigraphie mit der Angerkamera

Zur Erfassung der Anfangsphase der Plättchenverteilung wurde eine dynamische Szintigraphie in ventraler Sicht über die Dauer einer Stunde nach Injektion der markierten Plättchen durchgeführt (Angerkamera der Fa. Nuclear Ohio mit divergierendem, hochenergetischem Kollimator).

Dabei wurde pro Minute ein Bild auf Magnetband gespeichert, die Auswertung erfolgte mittels Regions of Interest (ROI) über der Milz, der Leber und den Lungen. Zwei weitere paravertebrale Regionen wurden für die Darstellung der Untergrundaktivität gewählt (Abb.4).

2.2.10. Oberflächenaktivitätsmessungen am Funktionsmeßplatz

Im Anschluß an die szintigraphischen Aufnahmen folgten weitere Organmessungen am sog. Funktionsmeßplatz (Friehecke und Höpfner). Dieser besteht aus einer Patientenliege mit 3 frei beweglichen Detektoren. Die Meßfelder wurden auf den Ort der höchsten Aktivität ausgerichtet. Als Anhaltspunkte galt für das Herz der 4. Interkostalraum links parasternal, für die Leber der Schnittpunkt der rechten Medioclavicularlinie mit dem Rippenbogenrand und für die Milz der Schnittpunkt der linken vorderen Axillarlinie mit der 9. Rippe. Die Meßfelder wurden auf der Haut markiert und die Sonden senkrecht zur Körperoberfläche aufgesetzt, um eine konstante Meßgeometrie über den gesamten Untersuchungszeitraum zu gewährleisten. Zur Gewährleistung der Meßkonstanz wurde ein Standard mitgeführt.

2.2.11. Bestimmung des Abbauortes und Berechnung der Überschußimpulse

Nach der Korrektur des physikalischen Zerfalls wurden die Meßwerte der einzelnen Probanden, um eine bessere Vergleichbarkeit zu erzielen, auf eine Anfangsaktivität der Herzkurve von 100 000 Impulsen pro Minute (counts per minute = cpm) standardisiert. Dafür wurden alle Meßwerte mit dem Faktor

$$\frac{100\ 000}{H_o}$$

multipliziert.

H_o = erster gemessener Herzwert

Die Herzkurve beginnt demnach mit dem Wert 100 000, die Anfangsaktivitäten über Milz bzw. Leber liegen entsprechend höher oder tiefer.

Die Berechnung der Überschußimpulse erfolgte nach folgendem Verfahren:

Für den Fall, daß die Milz sich gegenüber den Thrombozyten ähnlich verhält wie das Herz, d.h. keine Plättchen speichert, kann festgesetzt werden:

$$\frac{A^x_{Mt}}{A_{Mo}} = \frac{A_{Ht}}{A_{Ho}}$$

Durch Umformung erhält man:

$$A^x_{Mt} = A_{Mo} \times \frac{A_{Ht}}{A_{Ho}}$$

Die wirklichen Aktivitäten über der Milz zum Zeitpunkt t liegen jedoch immer höher als über dem Herzen, so daß zwischen

dem wirklichen Wert und dem Erwartungswert eine Differenz besteht, die als sog. Überschußimpulse bzw. zusätzliche Aktivität angegeben werden:

$$\ddot{U} = A_{Mt} - A^x_{Mt} = A_{Mt} - A_{Mo} \times \frac{A_{Ht}}{A_{Ho}}$$

$\ddot{U}$ = Überschußimpulse

A_{Mt} = standardisierter Aktivitätswert über der Milz zum Zeitpunkt t

A^x_{Mt} = erwarteter Aktivitätswert über der Milz zum Zeitpunkt t bei Annahme eines indifferenten Verhaltens der Milz gegenüber den Plättchen

A_{Mo} = standardisierter erster Aktivitätswert über der Milz

A_{Ht} = standardisierter Aktivitätswert über dem Herzen zum Zeitpunkt t

A_{Ho} = auf 100 000 cpm standardisierter erster Aktivitätswert über dem Herzen

An Stelle der Aktivitätswerte über dem Herzen wurde jedoch die im Bohrloch gemessenen Blutaktivitätswerte verwandt, da diese Methode exaktere Ergebnisse liefert (6), d.h. für den ersten Aktivitätswert über dem Herzen A_{Ho} wurde der entsprechende Blutwert verwandt, in diesem Fall der Wert 1 Stunde p.i., für die Aktivitätswerte A_{Ht} die zu dieser Zeit entnommenen Blutwerte.

Die Überschußimpulse über der Leber errechnen sich analog.

3.0. Ergebnisse

3.1. Untersuchung von hämatologisch Gesunden

Die Überlebenszeit der markierten Blutplättchen im Organismus, ihr Verhalten während der Anfangsphase der Verteilung sowie die Oberflächenaktivitäten über den Organen Milz, Leber und Herz während des Zeitraumes von 10 Tagen wurde bei insgesamt 10 hämatologisch Gesunden untersucht (9 Männer und eine Frau im Alter zwischen 22-35 Jahren).

Der Markierungseffekt lag zwischen 14-64 % ($\bar{x}=24,9$ %), Recoverywerte zwischen 33,8 und 48 % ($\bar{x}=43,2$ %). Die durchschnittlich applizierte Aktivität des Plättchenkonzentrates betrug 391 μCi (14,4 MBq).

Die Bestimmung der Thrombozytenüberlebenszeit erfolgte graphisch sowie auf rechnerischem Weg. Als Grundlage diente in beiden Fällen einmal die reine thrombozytenggebundene Aktivität ("Thrombozytenwerte"), zum anderen die Aktivität des Vollblutes ("Blutwerte").

Für die graphische Auswertung wurden die Thrombozytenwerte (Abb.1) und die Blutwerte (Abb.2) der einzelnen Probanden, ausgedrückt in Prozent der Ausgangsaktivität, über die Zeit dargestellt. Zusätzlich wurden die Meßwerte in einen Rechner eingegeben und die sog. gewichtete mittlere Überlebenszeit (29) berechnet.

Tab. 2 gibt zusammengefaßt die Ergebnisse der verschiedenen Auswertungsverfahren wieder:

Für den Zeitpunkt des Abfalls auf 50 % ($t_{1/2}$ =biologische Halbwertszeit) ergaben sich Mittelwerte von 4,5 (Thrombozytenwerte) bzw. 4,3 Tagen (Blutwerte). Statistisch war der Unterschied nicht signifikant (Prüfung auf Paardifferenzen mit dem Zeichentest, $2\alpha \leq 0,05$). Die Spannweite der

Differenzen (Blut- minus Thrombozytenwerte) betrug -1,3 bis +0,4 Tage, bei einem Medianwert von -0,15 Tagen, d.h. bei Benutzung der Blutwerte lag die biologische Halbwertszeit eher niedriger als bei Benutzung der Thrombozytenwerte.

Für den Zeitpunkt des Abfalls auf 10 % bzw. 0 % ergaben sich Mittelwerte von 7,9 (Thrombozytenwerte) und 8,4 Tagen (Blutwerte) bzw. von 8,9 (Thrombozytenwerte) und 9,3 Tagen (Blutwerte). Diese Unterschiede waren statistisch signifikant ($2\alpha \leq 0,05$). Die Spannweite der Differenzen (Blut- minus Thrombozytenwerte) betrug z.Z. des Abfalls auf 10% 0 bis 0,8 Tage (Medianwert 0,5 Tage) bzw. z.Z. des Abfalls auf 0 % 0 bis 1,0 Tage (Medianwert 0,4 Tage).

Bei der rechnerischen Auswertung mittels der gewichteten mittleren Überlebenszeit lagen die Mittelwerte bei 9,2 (Thrombozytenwerte) bzw. 10,8 Tagen (Blutwerte). Auch diese Unterschiede waren statistisch signifikant ($2\alpha \leq 0,05$). Die Spannweite der Differenzen war hier jedoch am größten. Sie lag zwischen 0,5 und 5,0 Tagen (Medianwert 1,25 Tage). Es liegen also bei der Berechnung der gewichteten mittleren Überlebenszeit, wie auch bei der graphischen Auswertung (10 % bzw. 0 %), die Überlebenszeiten bei Verwendung der Blutwerte höher als bei Verwendung der Thrombozytenwerte.

Die Anfangsphase der Plättchenverteilung wurde mit einer Angerkamera verfolgt, die sowohl die bildliche Darstellung der Organe als auch die Analyse ihres zeitlichen Aktivitätsverhaltens erlaubt (dynamische Szintigraphie).

Eine typische szintigraphische Darstellung der Thorax- und Oberbauchregion eines hämatologisch Gesunden aus ventraler Sicht zeigt Abb. 3. Man erkennt rechts die Milz als stark speicherndes, kompaktes Organ, während der übrige Oberbauch von der Leber mit ihrer wesentlich schwächeren Strahlungsaktivität ausgefüllt wird. Über den mitdargestellten Lungenabschnitten erkennt man keine umschriebenen Aktivitätsanreicherungen.

Für die zeitliche Darstellung des Aktivitätsverhaltens der Organe während der Anfangsphase der Plättchenverteilung wurde über der Milz und der Leber jeweils ein Gebiet ausgewählt (Region of Interest = ROI), über den Lungen je zwei Gebiete. Zwei weitere paravertebrale Gebiete dienten zur Darstellung der Untergrundaktivität (Abb.4).

Die auf diese Weise verfolgte Anfangsphase der Plättchenverteilung verlief bei allen untersuchten Normalpersonen im wesentlichen gleich (Abb.5): Über der Milz kam es in den ersten Minuten zu einem steilen, exponentiellen Aktivitätsanstieg, der sich dann abflachte und nach etwa 20 Minuten in eine Plateauphase überging. Die Leber zeigte demgegenüber eine viel geringere Aktivitätsaufnahme, die nach etwa 6 Minuten abgeschlossen war und im Untersuchungszeitraum konstant blieb. Über den Lungen kam es zu keiner umschriebenen Aktivitätsspeicherung.

Was die Abbildungen 1 und 2 auf Grund ihrer Analysensequenz nicht wiedergeben konnten, waren die Blutaktivitäten während der Anfangsphase der Plättchenverteilung. Abb.6 zeigt das zeitabhängige Verhalten der thrombozytengebundenen Aktivität im peripheren Venenblut, wie es bei 7 hämatologisch Gesunden vorgefunden wurde. Ihm sind gegenübergestellt die zugehörigen Milzaktivitäten. Es wird erkennbar, daß innerhalb von nur 20 Minuten nach Reinjektion der $^{111}\text{Indium}$ -markierten Plättchen die thrombozytengebundene Aktivität auf unter 50 % des Ausgangswertes absank. Der Abfall war in den ersten 10 Minuten steil und leitete in den folgenden 10 Minuten in eine Phase des Gleichgewichts über. Dies entspricht spiegelbildlich dem schon erörterten Aktivitätsverhalten über der Milz (Abb.5).

Das Langzeitverhalten der markierten Plättchen im Organismus wurde durch Organmessungen am Funktionsmeßplatz eine Stunde bis neun Tage nach Reinjektion verfolgt:

Über dem Herzen fand sich, bei einer standardisierten Anfangsaktivität von 100 000 Impulsen pro Minute (cpm), ein relativ

flacher Aktivitätsabfall bis auf Werte zwischen 34 000 und 76 000 Impulsen pro Minute (Abb.7). Die Leber zeigte dagegen im Untersuchungszeitraum einen deutlichen Anstieg der Aktivität. Ausgehend von Werten zwischen 36 000 bis 96 000 cpm erreichte sie am 9. Tag Werte zwischen 76 000 bzw. 202 000 cpm (Abb.8). Noch deutlicher wurde dieser Aktivitätsanstieg bei Darstellung in Gestalt sog. Überschußimpulse (Abb.9), deren Höhe, ausgehend von der Basis 0 am 1. Tag, bis auf einen Mittelwert von $132\ 000\ \text{cpm} \pm 33\ 000\ \text{cpm}$ zunahm.

Die Aktivitätsmessungen über der Milz wiesen eine relativ hohe Streuung auf. So lagen die anfänglich gemessenen Werte zwischen 160 000 und 335 000 cpm, diejenigen vom 9. Tag zwischen 211 000 und 380 000 cpm. Daß insgesamt auch hier ein Anstieg der Oberflächenaktivität zu verzeichnen war, kam wieder deutlich bei Darstellung der sog. Überschußimpulse zum Ausdruck, deren Höhe, ausgehend von der Basis 0 am 1. Tag, bis auf einen Mittelwert von $267\ 000\ \text{cpm} \pm 59\ 000\ \text{cpm}$ anwuchs (Abb.10,11).

3.2. Untersuchung von Patienten mit Thrombozytenumsatzstörungen

Es wurden insgesamt 5 Patienten untersucht. 4 Patienten hatten eine mittelgradig verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit von 2,8 - 4,5 Tagen bei Thrombozytenausgangswerten von 29 000 - 68 000/ μ l, eine Patientin war bereits splenektomiert. Eine weitere Patientin hatte eine hochgradig verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit von unter 2 Stunden, die Thrombozytenwerte lagen hier um 10 000/ μ l, so daß zur Untersuchung Blut- und HLA-Gruppen-verträgliche allogene Thrombozyten benutzt wurden. Auch diese Patientin war bereits splenektomiert.

Pat. K.B., 56 Jahre, ♀ :

Diagnose: Idiopathische thrombozytopenische Purpura.

Anamnese: Seit 1968 Spontanblutungen in die Haut.

Klinischer Befund (1977): Thrombopenie um 40 000/ μ l bei deutlicher Vermehrung der Megakaryozyten im Sternalpunktat. Milz palpatorisch und szintigraphisch nicht vergrößert. Kein Hinweis auf einen Leberparenchymschaden. Untersuchung auf Thrombozytenautoantikörper (MKBR) negativ.

Verlauf: Ohne spezifische Therapie Fortbestand der Thrombopenie und unverändert geringe Blutungstendenz.

Bestimmung der Thrombozytenüberlebenszeit und Organmessungen (1979):

Markiertes Material: autologe Plättchen

Thrombozytenzahl: 41 000/ μ l

Markierungseffekt: 39 %

Recovery: 43 %

Überlebenszeit: 4,5 Tage (graphische Auswertung Thrombozytenwerte, 0 %)

Organmessungen (Abb.12): Steiler, deutlich über der Norm liegender Aktivitätsanstieg über der Milz bis auf über 64 0000 cpm am 5.Tag, besonders deutlich bei Darstellung mittels der Überschußimpulse (Abb.13). Die Leber zeigte, bei etwas erhöhter initialer Aufnahme, eine gering über der Norm liegende Aktivitätsspeicherung (Abb.14).

Beurteilung: Mittelgradig verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit durch gesteigerten lienalen Abbau, geringe Mitbeteiligung der Leber.

Pat. A.W., 51 Jahre, ♂ :

Diagnose: Thrombozytopenie bei splenomegalem Leberparenchymschaden.

Anamnese: Seit 1978/79 Spontanblutungen in Haut- und Schleimhäute

Klinischer Befund (1980): Thrombopenie um 50 000/ μ l bei Steigerung der Megakaryopoese im Sternalpunktat. Durch Leber-Milz-Szintigramm und Computertomographie gesicherte Hepatosplenomegalie (Milzvolumen etwa 400 ml). Laborchemisch Hinweis auf toxischen Leberparenchymschaden. Thrombozytenautoantikörper nicht untersucht.

Verlauf: Unter einer Therapie mit Prednison bzw. Prednison/Azathioprin konnte keine Remission herbeigeführt werden.

Bestimmung der Thrombozytenüberlebenszeit und Organmessungen (1980):

Markiertes Material: autologe Plättchen

Thrombozytenzahl: 51 000/ μ l

Markierungseffekt und Recovery: nicht berechnet

Medikation z.Z. der Untersuchung: 10 mg Prednison u. 200 mg Azathioprin/die

Überlebenszeit: 3,5 Tage (graphische Auswertung Blutwerte, 0 %)

Organmessungen (Abb.15): Hohe initiale Aktivitätsspeicherung in der Milz, weniger in der Leber, anschließend nur geringfügiger weiterer Anstieg. Die Darstellung mittels der Überschußimpulse (Abb.16) zeigt eine über der Norm liegende Aktivitätseinlagerung in die Milz sowie eine grenzwertige Aktivitätsspeicherung in der Leber (Abb.17).

Beurteilung: Mittelgradig verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit. Vermehrte Speicherung der Plättchen in der vergrößerten Milz.

Pat. G.B., 56 Jahre, ♀ :

Diagnose: Idiopathische thrombozytopenische Purpura

Anamnese: Seit Feb. 1979 Spontanblutungen in Haut- und sichtbare Schleimhäute

Klinischer Befund (Mai 1979): Thrombopenie unter 10 000/ μ l bei deutlicher Megakaryozytenvermehrung im Sternalpunktat. Leber- und Milzgröße palpatorisch wie szintigraphisch unauffällig. Laborchemisch kein Hinweis auf Leberparenchymschaden, Untersuchung auf Thrombozytenautoantikörper (MKBR) negativ.

Verlauf: Da es unter einer 6-monatigen Therapie mit Prednison zu keiner Remission kam, erfolgte, gestützt auf das Ergebnis der Organmessungen, im November 1979 die Splenektomie. Diese führte, seit Februar 1980 durch eine Azathioprin-Dauertherapie unterstützt, zu einer Normalisierung der Plättchenzahl.

Bestimmung der Thrombozytenüberlebenszeit und Organmessungen (Sept. 1979):

Markiertes Material: autologe Plättchen

Thrombozytenzahl: 68 000/ μ l

Markierungseffekt: 60 %

Recovery: 85 %

Medikation z.Z. der Untersuchung: 30 mg Prednison im Abstand von 2 Tagen

Überlebenszeit: 3 Tage (graphische Auswertung Thrombozytenwerte, 0 %)

Organmessungen (Abb.18): Relativ steiler Anstieg der Milzaktivität bis zum 3. Tag mit anschließender Plateaubildung. Die Einlagerung in die Milz wurde deutlicher in der Darstellung mittels der Überschußimpulse (Abb.19). Die Leber zeigte keine vermehrte Aktivitätseinlagerung.

Beurteilung: Mittelgradig verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit durch ausschließlich lienalen Abbau.

Pat. M.G., 51 Jahre, ♀ :

Diagnose: Idiopathische thrombozytopenische Purpura

Anamnese: Seit 1967 rezidivierende Spontanblutungen in die Haut, Metrorrhagien, Splenektomie März 1979.

Klinischer Befund (März 1976): Thrombopenie von 10 000/ μ l, im Sternalmark erhebliche Vermehrung der Megakaryozyten, Leber palpatorisch und szintigraphisch mäßig vergrößert, laborchemisch kein Anhalt für einen Leberparenchymschaden, Milz normal groß. Untersuchung auf Thrombozytenautoantikörper (Antiglobulinkonsumption) positiv.

Verlauf: Unter Therapie mit Prednisolon und Azathioprin keine ausreichende Erholung der Plättchenwerte, daher die Splenektomie März 1979. Danach nur kurzfristiger Thrombozytenanstieg auf 24 000/ μ l, weitere Therapie mit Azathioprin und Prednisolon.

Bestimmung der Thrombozytenüberlebenszeit und Organmessungen (Juli 1979):

Markiertes Material: autologe Plättchen

Thrombozytenzahl: 29 000/ μ l

Markierungseffekt: 57 %

Recovery: 16,7 %

Medikamenteneinnahme z.Z. der Untersuchung: 20 mg Prednisolon und 150 mg Azathioprin pro Tag

Überlebenszeit: 2,8 Tage (graphische Auswertung Blut- und Thrombozytenwerte, 0 %)

Organmessungen: Erheblich verstärkte Aktivitätsaufnahme der Leber schon während der Anfangsphase der Verteilung (dynamische Szintigraphie, Abb.21). Die mit dem Funktionsmeßplatz fortgeführten Oberflächenaktivitätsmessungen bestätigten diesen Befund, es kommt über der Leber in den ersten beiden Tagen zu einem extremen Anstieg der Aktivität bis auf über 1,8 Mill. cpm, der danach einen wesentlich flacheren Verlauf nimmt (Abb. 20).

Beurteilung: Mittelgradig verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit. Bei Z.n. Splenektomie stark gesteigerter Abbau der Plättchen in der Leber.

Pat. W.S., 42 Jahre, ♀ :

Diagnose: Idiopathische thrombozytopenische Purpura bei Z.n. Splenektomie, V.a. toxischen Leberparenchymschaden

Anamnese: 1965 erstmals Einblutungen in die Haut, verlängerte Menses (Thrombozytenwerte 9 000/ μ l, Megakaryozyten im Sternalpunktat angeblich nicht vermehrt). Unter Kortikoidtherapie keine ausreichende Erholung der Plättchenwerte, daher Splenektomie Feb. 1966, Plättchenwerte danach über 100 000/ μ l. 1974 erneut Einblutungen in die Haut, Thrombopenie von 23 000/ μ l, ausreichender Gehalt an Megakaryozyten im Sternalpunktat. Da die Transaminasen zweistellig erhöht waren, wurde eine Leberbiopsie durchgeführt, die den Verdacht auf einen toxischen Leberparenchymschaden ergab. Szintigraphisch war die Leber nicht vergrößert. Untersuchung auf Thrombozytenautoantikörper (Coombstest) negativ. Therapie: 10 mg Prednison/die.

Klinischer Befund (Jan. 1979): Plättchenwerte um 10 000/ μ l, Leber szintigraphisch leicht vergrößert, Untersuchung auf Thrombozytenautoantikörper (MKBR) weiterhin negativ.

Bestimmung der Thrombozytenüberlebenszeit und Organmessungen (Feb. 1979):

Thrombozytenzahl: 10 000/ μ l

Markiertes Material: Blut- und HLA-Gruppen-verträgliche allogene Plättchen.

Markierungseffekt: 68 %

Recovery: 12,5 %

Medikamenteneinnahme z.Z. der Untersuchung: 25 mg Prednison/die

Überlebenszeit: T 1/2 = 117 Minuten (graphische Auswertung Blutwerte)

Szintigraphie (Abb.22): Darstellung einer vergrößerten Leber, paravertebral links kam es zu einer kleinen, umschriebenen Aktivitätsanreicherung. Es handelte sich hierbei um eine etwa 3 cm im Durchmesser große Nebenmilz (operativ und histologisch gesichert).

Organmessungen: Starke initiale Aktivitätsanreicherung über der Leber, die bis zum 6.Tag nach Injektion der Fremdthrombozyten anhielt. Die Aktivität über der Nebenmilz stieg am 1.Tag geringfügig, blieb jedoch nur unwesentlich höher als die Aktivität über dem Herzen (Abb.23).

Beurteilung: Hochgradig verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit. Abbau der Plättchen in der Leber, nur geringe Beteiligung der Nebenmilz.

4.0. Diskussion

Die Vorteile des $^{111}\text{Indiumoxin}$ gegenüber den bisher verwendeten Plättchenmarkern wurden eingangs schon erwähnt.

Die erstmals von THAKUR (48) vorgestellte Methode hat inzwischen zahlreiche Varianten erfahren, die bei gleichzeitig möglichst schonenden Bedingungen hauptsächlich die Steigerung des Markierungseffektes zum Ziel haben (18,21,22,43,47,52).

Dabei wurden vor allem plasmafreie Medien verwandt, da THAKUR (50) bei Markierungsversuchen mit Leukozyten eine hohe Affinität des $^{111}\text{Indiumoxin}$ zu Plasmatransferrin zeigen konnte. Dem widerspricht SCHEFFEL (43), die bei Abwesenheit von Citrationen keine wesentliche Beeinflussung des Markierungseffektes durch Transferrin fand. Unter definierten Bedingungen, bei denen die Konzentration der Plättchen etwa 5×10^9 Zellen pro ml und die des Oxins $6 \mu\text{g}$ pro ml Suspension beträgt, konnte sie Markierungsausbeuten von 55 % in Plasma erreichen.

In letzter Zeit hat HAWKER (21) eine weitere Methode angegeben, bei der die Plättchen aus 26 ml Blut in calciumfreier Tyrodelösung markiert werden, der zur Erleichterung der Resuspension des Plättchensedimentes Prostaglandin E_1 zugesetzt wird. Er erreicht bei einer Inkubationsdauer von 60 Sekunden und 37°C einen Markierungseffekt von über 90 %. Die Überlebenszeit und die Spontanaggregation der so markierten Plättchen ist nicht herabgesetzt.

In dieser Arbeit wurde bei hämatologisch Gesunden mit normalen Plättchenausgangswerten ein durchschnittlicher Markierungseffekt von 24,9 % erreicht. Gründe für diesen relativ niedrigen Wert dürften eine Erklärung in der oben erwähnten Affinität des $^{111}\text{Indiumoxin}$ zu Plasmatransferrin finden. Weiterhin ist es in den verwendeten weichen Blutspendebeuteln schwierig, die Plättchenkonzentration auf einen bestimmten Wert einzustellen, da die Volumina in einem Beutel nur unsicher abgeschätzt werden können. Aus dem gleichen Grund ist die genaue Einhaltung der Oxinkonzentration und des pH-Wertes erschwert.

Allerdings kommt der Frage des Markierungseffektes bei thrombo-kinetischen Untersuchungen nur eine untergeordnete Bedeutung zu, solange die plättchengebundene Aktivität ausreicht, die Überlebenszeit und den Abbauort mit hinreichender statistischer Sicherheit zu bestimmen. Sofern keine Aufnahmen mit der Gamma-kamera beabsichtigt sind, sollen 100-150 μCi bei normalen Plättchenausgangswerten reichen (44). Der Markierungseffekt bei Patienten mit Thrombozytenumsatzstörungen betrug 39 - 68 %, wahrscheinlich liegen bei Plättchenwerten von 29 000 bis 68 000/ μl sogar recht günstige Markierungsbedingungen vor.

Der durchschnittliche Recovery bei hämatologisch Gesunden, 20 bis 30 Minuten p.i., unter Verwendung der Thrombozytenwerte betrug 43,2 %. Dieser Wert dürfte den von GOODWIN (18) und KLONIZAKIS (31) mitgeteilten Werten von 52 bzw. 47 % entsprechen, da diese für die Berechnung die Blutwerte, unter Abzug der Plasmaaktivität verwenden. Die übrigen in der Literatur angegebenen Recoverywerte sind aus methodischen Gründen nicht untereinander vergleichbar, da der Zeitpunkt, zu dem die zur Berechnung herangezogenen Blutproben gewonnen werden, von 5 Minuten bis 2 Stunden reicht (18,22,24,48). Bei Verwendung von Vollblutproben können neben Plasma- zusätzlich noch Erythrozytenverunreinigungen mit in die Berechnung eingehen. Die hier beschriebene Aufarbeitung der Blutproben erfaßt wahrscheinlich jedoch nicht alle Plättchen. Ungenauigkeiten ergeben sich ferner aus der rechnerischen Bestimmung des Blutvolumens. Weiter soll der Recovery, neben einem Maß für die Schädigung der Plättchen während des Markierungsvorganges, ein Maß für die immunologische Schädigung der Plättchen mit rascher Sequestration im RES sein. Bei bis auf wenige Stunden verkürzter Überlebenszeit ist daher die Wahl des Zeitpunktes, zu dem der Recovery bestimmt werden soll, schwierig. Aus all diesen Gründen und den sich daraus ergebenden Unsicherheiten wurde dem Recovery in dieser Arbeit, insbesondere bei thrombopenischen Patienten, keine besondere differentialdiagnostische Bedeutung zubemessen.

Die Daten der Plättchenüberlebenszeiten bei hämatologisch Gesunden korrespondieren gut sowohl mit den für ^{51}Cr als auch ^{111}In bekannten Werten (6,21,22,32,34,37). Es zeigte sich allerdings, daß, außer bei der biologischen Halbwertszeit $t_{1/2}$, ein signifikanter Unterschied bei der Bestimmung der Überlebenszeit aus der reinen thrombozytengebundenen Aktivität gegenüber der Bestimmung aus nicht aufgearbeiteten Vollblutwerten besteht. Insbesondere bei der rechnerischen Auswertung waren diese Differenzen am höchsten, bis zu 5 Tage, während bei der graphischen Auswertung diese einen Tag nicht überschritten. Allerdings ist dieses Verfahren nicht frei von subjektiven Einflüssen. Bei gezielten Fragestellungen, wie etwa der Auswirkung von Medikamenten oder diätetischen Maßnahmen, ist, zur besseren Vergleichbarkeit, die hier beschriebene Aufarbeitung der Blutproben und die rechnerische Auswertung zu fordern. Die Bestimmung der Überlebenszeit aus Vollblutwerten abzüglich der Plasmaaktivität wurde hier nicht untersucht. Unter der Voraussetzung einer minimalen Erythrozytenverunreinigung gibt diese Methode wahrscheinlich ebenfalls ziemlich realistische Ergebnisse, zumal in vivo $^{111}\text{Indiumoxin}$ aus mitmarkierten Erythrozyten schnell eluieren soll (44). Zur Differentialdiagnose thrombopenischer Erkrankungen erscheint die graphische Bestimmung der Überlebenszeit aus den Blutwerten ausreichend, da hier in der Regel nur die Unterscheidung in stark, mittel- oder geringgradig verkürzte Überlebenszeit interessiert.

Untersuchungen zum Abbau- bzw. Sequestrationsort der Plättchen beziehen ihre Berechtigung aus der mit dieser Untersuchung unmittelbar verbundenen Indikationsstellung zur Splenektomie. Die hier mit der Angerkamera verfolgte Anfangsphase der Plättchenverteilung bestätigt die schon von ASTER (4) gefundene Tatsache, daß ein Großteil der Plättchen zunächst in der Milz gespeichert wird. Diese initial gespeicherten Plättchen stehen mit den übrigen zirkulierenden Plättchen in einem Austausch und lassen sich teilweise wieder mobilisieren (4,16), die Milz fungiert als physiologischer Plättchenspeicher. Die Leber hat

an dieser frühen Sequestration bei Normalen einen wesentlich geringeren Anteil, ebenso wie die Lungen.

In letzter Zeit konnten verschiedene Autoren durch quantitative szintigrafische- und Ganzkörperzähltechniken die prozentuale Verteilung genau angeben, so gibt HEYNS (23) die initiale Aufnahme der Milz mit 26 % und die der Leber mit 16 % der injizierten Dosis an. KLONIZAKIS (31) und SCHEFFEL (44) bestimmen die initiale Aufnahme mit etwa 35 bzw. 38 % für die Milz und mit etwa 12 bzw. 13 % für die Leber.

Die in dieser Arbeit an die Untersuchung der Anfangsphase geknüpfte Hoffnung, bei thrombopenischen Patienten schon in diesem frühen Stadium eine diagnostisch verwertbare Aussage zu erhalten, erfüllte sich nur zum Teil. Das qualitative Verhalten der frühen Sequestrationskurven bei thrombopenischen Patienten zeigte keine wesentliche Abweichung zu dem hämatologisch Gesunder. Nur in einem Fall kam es bei einer splenektomierten Patientin (M.G.) über der Leber zu einem deutlich exponentiellen Aktivitätsanstieg, analog zu dem über der Milz bei Normalen. Dies könnte bei vorsichtiger Interpretation zunächst auch als reversible Speicherung (Pooling) gedeutet werden, obwohl die Leber in der Folgezeit auch deutliche Hinweise für einen Plättchenabbau zeigte. Die Untersuchung der frühen Plättchensequestration hat somit wahrscheinlich keine wesentliche Bedeutung für die Aussage über den endgültigen Abbauort, allerdings ist die hier untersuchte Patientenzahl sicherlich zu klein. HEYNS (25) fand bei 8 Patienten mit ITP ebenfalls keinen signifikanten Unterschied in der initialen Aktivitätsaufnahme von Milz und Leber zu Normalen.

Messungen der Oberflächenaktivitäten von Milz und Leber mittels einzelner, externer Szintillationssonden am sogenannten Funktionsmeßplatz existieren bisher nicht. Diese Methode, die schon bei der ^{51}Cr -Markierung ihre Anwendung gefunden hat, zeichnet sich gegenüber den erwähnten, computerassistierten Gammakamera- und Ganzkörperzähltechniken durch ihre Einfachheit in der Handhabung und Auswertung aus. Nachteilig ist, daß

mit dieser Methode nur partielle Abschnitte, nicht jedoch das ganze Organvolumen erfaßt wird. Bei alleiniger Messung von ventral wird durch die anatomische Situation die Leber über- und die Milz unterbewertet. Unter Voraussetzung einer sorgfältigen, reproduzierbaren Meßtechnik werden jedoch auch hier relative Änderungen der Organaktivitäten gut erfaßt und können Hinweise auf ein gesteigertes Abbauverhalten geben.

Bei diesen, im Anschluß an die Verteilungsphase vorgenommenen Messungen fand sich während des Zeitraumes der normalen Überlebensdauer über der Leber ein eindeutiger Anstieg der Aktivität um etwa das Zweifache, der Aktivitätsanstieg über der Milz war wesentlich geringer. Dies wird durch Befunde von HEYNS (23) und ROBERTSON (41) bestätigt. HEYNS fand einen über zweifachen Aktivitätsanstieg über der Leber und einen geringen, aber signifikanten Anstieg über der Milz. ROBERTSON fand ebenfalls einen deutlichen Anstieg der Leber-, aber keinen der Milzaktivität, dafür einen geringfügigen Anstieg der Nierenaktivität. KLONIZAKIS (31) und SCHEFFEL (44) berichten demgegenüber nur von einem geringen bzw. keinem signifikanten Aktivitätsanstieg über Leber bzw. Milz.

Diese zunächst verwunderlichen Differenzen finden ihre Erklärung sicherlich in den unterschiedlichen Meß- bzw. Auswerteverfahren sowie Kalibrierungsproblemen. Leider fehlen in den genannten Arbeiten die für eine eingehende Analyse nötigen methodischen Details. SCHEFFEL (44) hat zudem von 8 Probanden nur einen bis zum 9. Tag p.i. untersucht, den Durchschnitt nur bis etwa 3 Tage p.i..

Aus Untersuchungen mit ^{51}Cr jedenfalls weiß man, daß es hier ebenfalls zu einem Anstieg der Leberaktivität kommt, während die Milzaktivität etwa konstant bleibt. ASTER (4) sieht aus diesem Grund die Leber als Hauptabbauort der Plättchen an.

Für die eigentliche Interpretation derartiger Organaktivitätskurven in Hinblick auf ein gesteigertes Abbauverhalten ist die Feststellung wichtig, daß die gemessenen Aktivitätswerte sich aus mindestens 4 Teilbereichen zusammensetzen:

1. Aktivität auf Grund der Durchblutung
2. Aktivität durch reversibel gespeicherte Plättchen
3. Untergrundaktivität des umgebenden Gewebes
4. Intrazellulär im Organ fixierte Aktivität

Die Elimination der durchblutungsbedingten Aktivität gelingt relativ leicht mit Hilfe der Überschußimpulse. Insbesondere bei nicht eindeutig beurteilbaren Oberflächenaktivitätskurven thrombopenischer Patienten kann diese Methode zur exakten Diagnosestellung beitragen. Die reversibel in der Milz gespeicherten Plättchen ließen sich theoretisch z.B. durch Adrenalininfusion mobilisieren, in der Praxis wird dies jedoch nicht durchgeführt. Die Aktivität des Milz und Leber umgebenden Gewebes ist größenordnungsmäßig klein und kann wahrscheinlich vernachlässigt werden. Bei der intrazellulär fixierten Aktivität hat KLONIZAKIS (31) darauf hingewiesen, daß diese von 2 Faktoren abhängt: dem Ausmaß nämlich, in dem dieses Organ freizirkulierendes, an Protein gebundenes ^{111}In -Oxin aufnimmt und dem Ausmaß, in dem ^{111}In -Oxin aus im Organ selbst zerstörten Plättchen gespeichert wird. Leider ist nicht klar, welches der Hauptakkumulationsort für freies ^{111}In -Oxin im Organismus ist, und ob dies überhaupt eine nennenswerte Rolle spielt, hier sind noch weitergehende Untersuchungen nötig. Die Ausscheidung im Urin und den Faeces ist jedenfalls nur sehr gering, die Ganzkörperaktivität bleibt über den Zeitraum der Plättchenlebensdauer bei Normalen nahezu konstant (23,44).

Als Tatsache kann inzwischen gelten, daß die Plättchen auch durch das RES des Knochenmarks eliminiert werden (23,31). Dies wird deutlich bei den Aktivitätsmessungen über dem Herzen. Der Abfall der Aktivität ist viel geringer, als es den Überlebenszeitkurven entspricht. Hier wird sicherlich die Aktivitätsspeicherung im Knochenmark von Sternum, Rippen und Brustwirbelsäule miterfaßt. KLONIZAKIS (31) beziffert die durch das Knochenmark aufgenommene Aktivität mit 35 - 40 % der injizierten Dosis.

Ungeachtet der Interpretationsschwierigkeiten von Oberflächenmessungen sollte hier gezeigt werden, daß das Verfahren geeignet ist, bei thrombopenischen Patienten Hinweise auf den Ort der vermehrten Plättchendestruktion zu geben.

Bei der Patientin K.B. handelte es sich um eine nichttherapierte ITP. Die Milz zeigte im Untersuchungszeitraum einen steilen Aktivitätsanstieg. Auch die Aktivitäten über der Leber lagen gering über der Norm, dies wurde deutlich bei Darstellung mittels der Überschußimpulse. Hier handelt es sich wahrscheinlich um einen gemischt lienal-hepatischen Abbau. Der Erfolg einer Splenektomie wäre in diesem Fall nicht mit Sicherheit vorherzusagen. Von 5 Patienten mit hepatogenem Abbau hatten 2 inkomplette Remissionen (17) bzw. von 4 Patienten hatten 2 Remissionen und ein Patient eine Teilremission (46). Diese Zahlen sind sicherlich zu klein um eindeutige Aussagen zu treffen, immerhin sieht GEHRMANN (17) in einem gemischten Abbauverhalten keine Kontraindikation zur Splenektomie. Der Abbautyp soll allerdings auch von der Antikörperbeladung abhängig sein, stark sensibilisierte Plättchen werden in der Leber, weniger mit AK-beladene in der Milz abgebaut (3). Oberflächenmessungen zur Bestimmung des Abbauortes werden dadurch jedoch nicht wertlos, da die Patienten mit einem ausschließlich hepatischen Abbau selektioniert werden können.

Bei Pat. A.W. wurde eine Hepatosplenomegalie gesichert. Die Milz zeigte eine hohe initiale Aufnahme, danach eine Plateaubildung. Nach BLEIFELD (7) würde dies für ein vermehrtes Pooling der Plättchen in der vergrößerten Milz sprechen. Die Leber zeigte eine nur gering über der Norm liegende Aktivitätsspeicherung. Möglicherweise kommt in diesem Fall zusätzlich noch eine immunologische Komponente mit ins Spiel, da die Plättchüberlebenszeit deutlich verkürzt war.

Pat. G.B. wurde auf Grund der Organmessungen, die eine vermehrte lienale Aktivitätsspeicherung zeigten, splenektomiert. Unmittelbar postoperativ stiegen die Plättchenwerte auf über 26 000/ μ l, sanken 3 Monate später jedoch wieder auf unter 100 000/ μ l, so daß eine Azathioprindauertherapie eingeleitet

wurde. Hier kann also nur von einer Teilremission gesprochen werden. Wahrscheinlich hat sich der Plättchenabbauort auf die Leber verlagert.

Pat. M.G. wurde splenektomiert, ohne daß die Indikation mit Hilfe der Organmessungen gestellt wurde. Bei der Untersuchung 3 Monate postoperativ fand sich eine extrem gesteigerte Aktivitätsaufnahme der Leber, die den Schluß auf einen verstärkten hepatischen Abbau nahe legt. Diese Patientin hätte möglicherweise vor der risikoreichen Splenektomie bewahrt werden können. Pat. W.S. war vor 13 Jahren mit gutem Therapieerfolg splenektomiert worden, hatte dann aber ein Rezidiv erlitten. Die Untersuchung, die wegen der erheblichen Thrombopenie mit Blut- und HLA-Gruppen-verträglichen allogenen Plättchen durchgeführt wurde, ergab einen gesteigerten Leberabbau. Als Nebebefund wurde mittels Szintigrafie eine Nebenmilz dargestellt, deren geringe Aktivitätsaufnahme jedoch nicht die Annahme eines erhöhten Plättchenabbaus erlaubte.

5.0. Zusammenfassung

Die Markierung von Thrombozyten mit $^{111}\text{Indiumoxin}$ ist eine neuartige Methode, die neben einem hohen Markierungseffekt eine sehr gute Gammaquantenausbeute ermöglicht.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Eignung dieser Methode für die Markierung in Blutbeuteln untersucht. Es fand sich bei hämatologisch Gesunden ein Markierungseffekt von durchschnittlich 24,9 %, bei einem Recovery von 43,2 %.

Bei der Überlebenszeitbestimmung aus nicht aufgearbeiteten Vollblutproben ergab sich, außer bei der biologischen Halbwertszeit $t_{1/2}$, eine signifikant längere Überlebenszeit gegenüber der Bestimmung aus reinen, durch verschiedene Aufarbeitungsschritte gewonnenen Thrombozytenkonzentraten. Insbesondere bei der rechnerischen Auswertung sollte aus diesem Grund die hier beschriebene Aufarbeitung der Blutproben erfolgen. Zur Differentialdiagnose thrombopenischer Erkrankungen erscheint die graphische Bestimmung der Überlebenszeit aus den

Vollblutproben ausreichend.

Die mit der Angerkamera verfolgte Anfangsphase der Plättchenverteilung zeigte für die Milz einen steilen, exponentiellen Aktivitätsanstieg, der nach 20 Minuten in eine Plateauphase überging. Korrespondierend dazu kam es zu einem Abfall der thrombozytengebundenen Aktivität im Venenblut. Diese Vorgänge wurden als Ausdruck der reversiblen Plättchenspeicherung interpretiert. Die Leber hatte an dieser frühen Sequestration einen wesentlich geringeren Anteil. Ihre Aktivitätsaufnahme war nach etwa 6 Minuten abgeschlossen und blieb dann zunächst konstant. Dieses Verteilungsmuster der Aktivitätsaufnahme von Milz und Leber bei hämatologisch Gesunden unterschied sich, bis auf eine Ausnahme, nicht von dem von Patienten mit Thrombozytenumsatzstörungen. Die Untersuchung der frühen Plättchensequestration hat somit wahrscheinlich keine wesentliche Bedeutung für die Aussage über den endgültigen Plättchenabbauort. Bei den am Funktionsmeßplatz verfolgten Oberflächenaktivitäten fand sich über der Leber, 1 Stunde bis 9 Tage p.i., ein eindeutiger Anstieg der Aktivität um etwa das Zweifache. Der Aktivitätsanstieg über der Milz war weniger deutlich. Mit Hilfe der sog. Überschußimpulse wurde die durchblutungsbedingte Aktivität subtrahiert. Über dem Herzen war der Aktivitätsabfall geringer als erwartet, dies wurde auf die miterfaßte Aktivitätsspeicherung im RES des Knochenmarks zurückgeführt. Die Bedeutung und die Fehlermöglichkeiten bei der Interpretation derartiger Oberflächenaktivitätsmessungen in Hinblick auf den Plättchenabbauort wurde diskutiert.

Die Markierung in Blutbeuteln eignet sich insbesondere auch für Patienten mit Trombozytenumsatzstörungen. Bei Thrombozytenausgangswerten zwischen 29 000 - 68 000/ μ l wurden hier Markierungseffekte von 34 - 68 % erreicht. Die Messungen am Funktionsmeßplatz sind geeignet zur Darstellung pathologischer Abbauvorgänge. Bei nicht eindeutig interpretierbaren Organaktivitätskurven kann die Darstellung mittels der Überschußimpulse weitere Klärung bringen.

Tabelle 1

Substanz	Markierung	Strahlungsart	Energie [MeV]	Halbwertszeit
^{14}C -Serotonin	in vitro, in vivo	β^-	0,156	5730 Jahre
^{32}P -Orthophosphat	in vivo	β^-	1,710	14,4 Tage
^{32}P -Diisopropyl- fluorophosphat	in vivo	β^-	1,710	14,4 Tage
^{51}Cr -Dinatriumchromat	in vitro	γ	0,320	28 Tage
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Pertechnetat	in vitro	γ	0,140	6 Stunden
^{111}In -Oxin	in vitro	γ	0,173 0,247	2,8 Tage

Tabelle 2

Thrombozytenüberlebenszeit: graphische (50 % = t 1/2, 10 %, 0 %) und rechnerische Auswertung (gewichtete mittlere Überlebenszeit). Angabe in Tagen unter Benutzung der Thrombozyten (Thr.) und Blutwerte (Bl.) bei hämatologisch Gesunden, Mittelwert ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s).

Patient	50 %		10 %		0 %		Gewichtete mittlere Überlebenszeit	
	Thr.	Bl.	Thr.	Bl.	Thr.	Bl.	Thr.	Bl.
M.Ma.	4,4	4,3	8,4	8,4	9,3	9,3	8,0	8,5
R.J.	3,2	2,8	7,2	7,3	8,0	8,2	9,6	11,5
G.M.	4,1	4,4	7,2	7,7	8,0	8,6	8,8	9,4
J.B.	4,8	4,8	8,3	9,1	9,2	10,2	10,3	11,6
A.B.	3,9	3,9	7,1	7,6	7,8	8,4	8,1	9,3
S.H.	4,0	3,7	6,9	7,4	7,7	8,2	8,2	13,2
L.H.	4,5	4,3	8,2	8,7	9,2	9,6	10,6	12,3
R.Z.	5,0	4,8	8,4	9,0	9,4	10,0	9,4	11,4
N.M.	4,4	4,8	7,8	8,2	8,8	9,2	9,2	10,1
M.Mi.	6,3	5,0	9,9	10,5	11,3	11,6	10,2	11,2
$\bar{x} = 4,5$		$\bar{x} = 4,3$	$\bar{x} = 7,9$	$\bar{x} = 8,4$	$\bar{x} = 8,9$	$\bar{x} = 9,3$	$\bar{x} = 9,2$	$\bar{x} = 10,8$
$s = +0,8$		$s = +0,7$	$s = +0,9$	$s = +1,0$	$s = +1,1$	$s = +1,1$	$s = +0,9$	$s = +1,5$

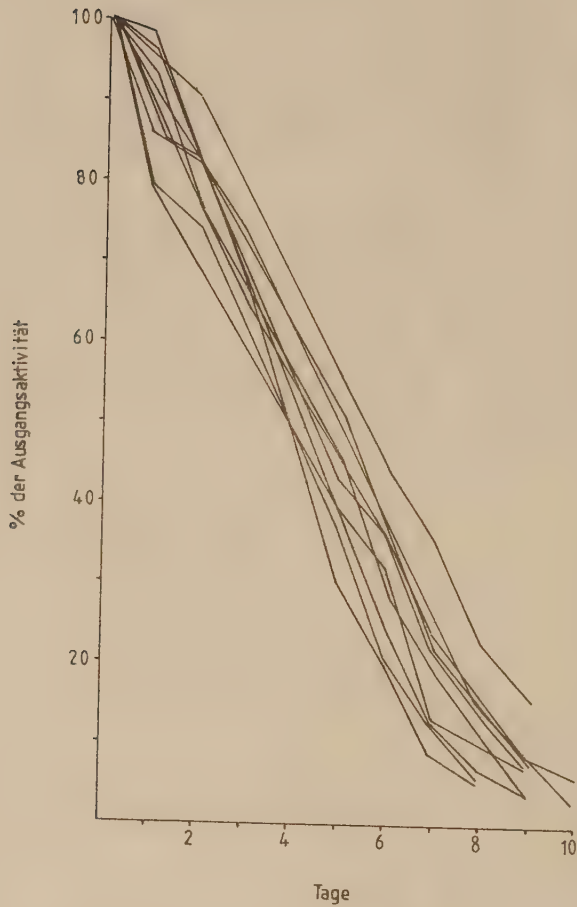


Abb. 1 Graphische Bestimmung der Thrombozyten-
überlebenszeit, Abfall der thrombozyten-
gebundenen Aktivität im peripheren Blut
hämatologisch Gesunder, ausgedrückt in
Prozent der Ausgangsaktivität

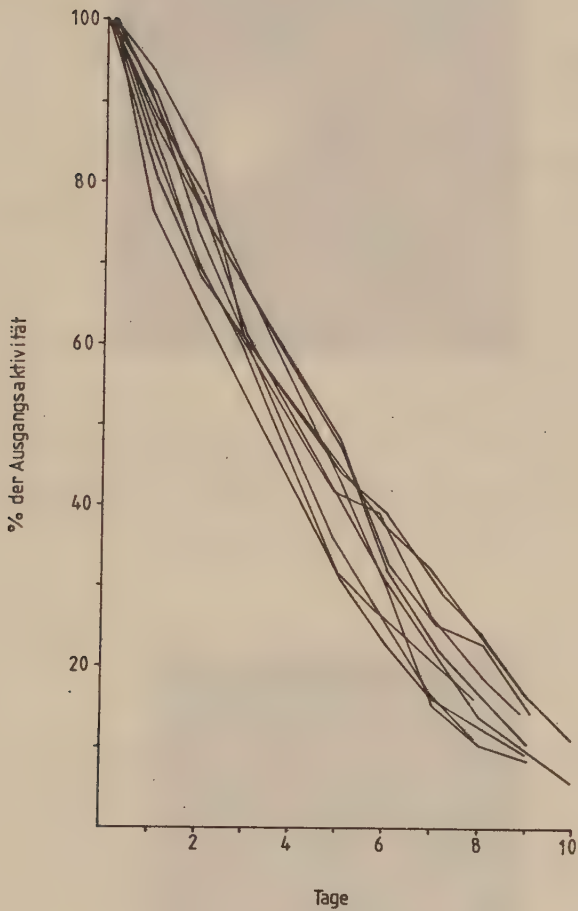


Abb. 2 Graphische Bestimmung der Thrombozyten-
überlebenszeit, Abfall der Aktivität im
Vollblut hämatologisch Gesunder, ausge-
gedrückt in Prozent der Ausgangsaktivität

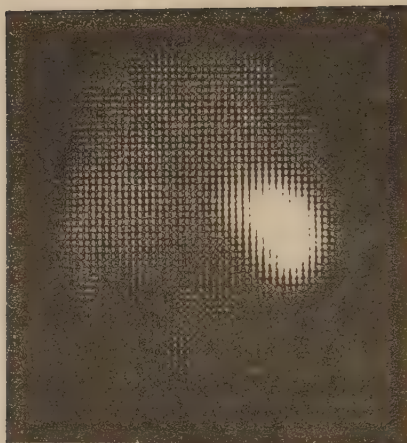


Abb. 3 Szintigramm der Thorax- und Oberbauchregion (ventrale Sicht) mit Darstellung von Milz und Leber bei einem hämatologisch Gesunden (J.B.), nach Gabe von ^{111}In -markierten Thrombozyten, 60 Minuten p.i.

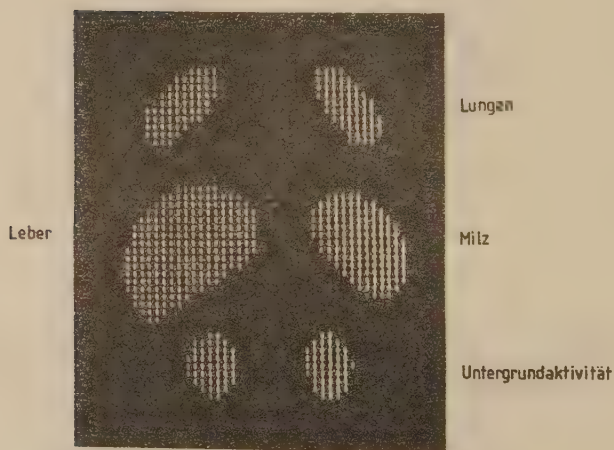


Abb. 4 Regions of Interest (J.B.)

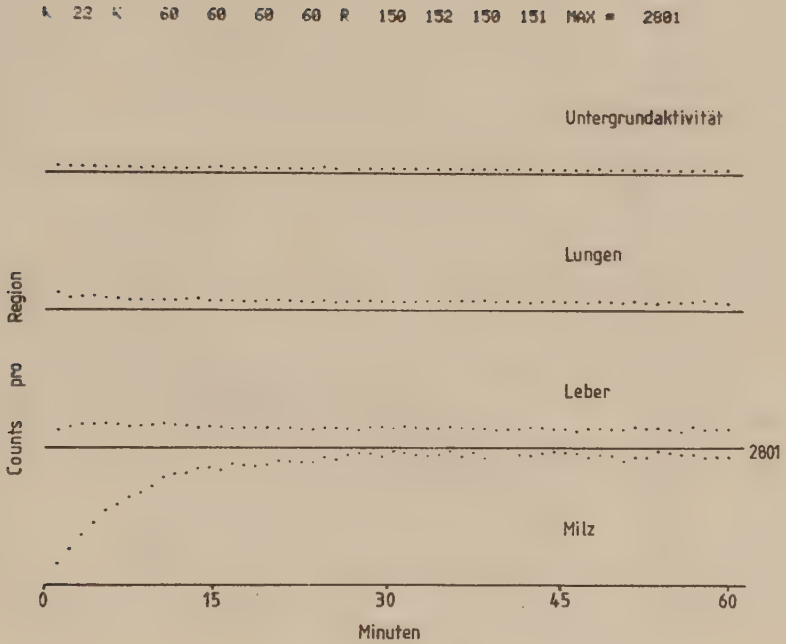


Abb. 5 Anfangsphase der Plättchenverteilung: dynamische Szintigraphie in ventraler Sicht über 60 Minuten nach Gabe $^{111}\text{Indium}$ -markierter Thrombozyten bei einem hämatologisch Gesunden (R.J.), Auswertung mittels Regions of Interest

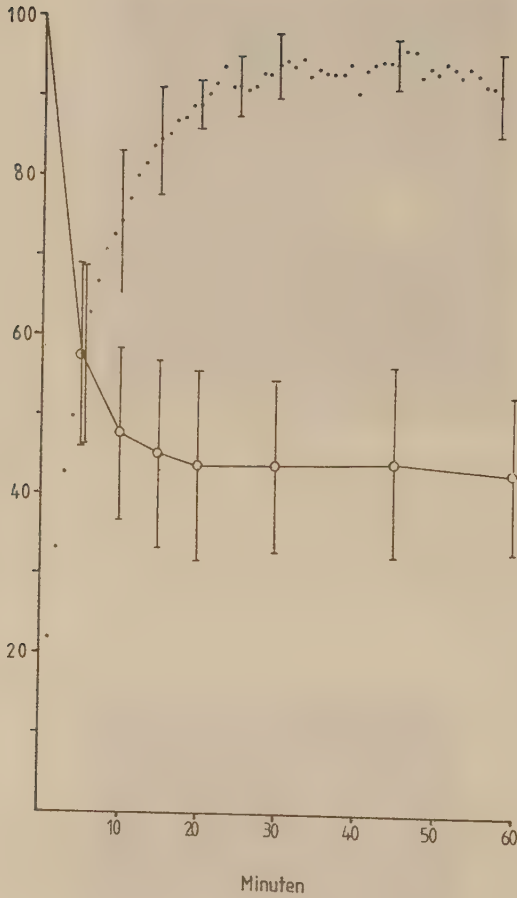


Abb. 6 Anfangsphase der Plättchenverteilung: initialer Abfall der thrombozytengebundenen Aktivität (○—○) im peripheren Blut (Abfall in % der Ausgangsaktivität) mit korrespondierendem Anstieg der Aktivität über der Milz (.....)(Anstieg in Counts pro Pixel) nach Gabe $^{111}\text{Indium}$ -markierter Thrombozyten bei hämatologisch Gesunden (Mittelwerte mit Standardabweichung, $n=7$)

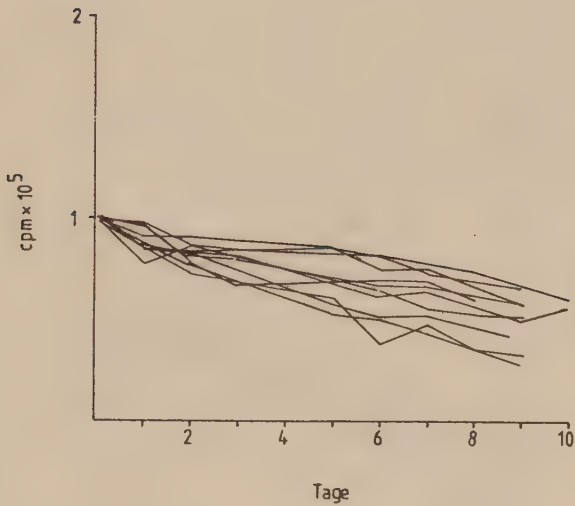


Abb. 7 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivität über dem Herzen (zerfallskorrigiert und standardisiert) nach Gabe ¹¹¹Indiummarkierter autologer Thrombozyten bei hämatologisch Gesunden (n=10)

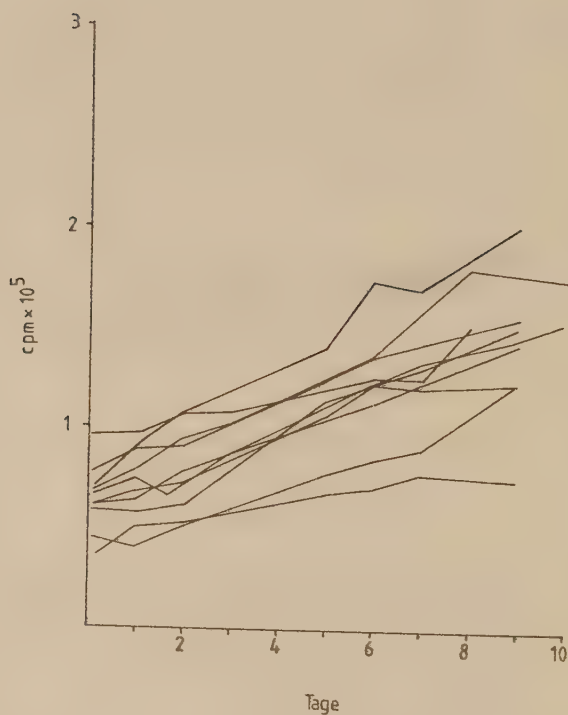


Abb. 8 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivität über der Leber (zerfallskorrigiert und standardisiert) nach Gabe ¹¹¹Indiummarkierter autologer Thrombozyten bei hämatologisch Gesunden (n=10)

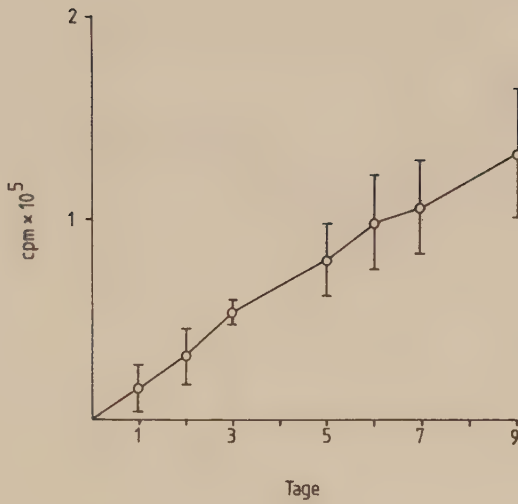


Abb. 9 Darstellung der Ergebnisse von Abb. 8 (Leber) in sog. Überschüßimpulsen (Mittelwerte mit Standardabweichung, n=10)

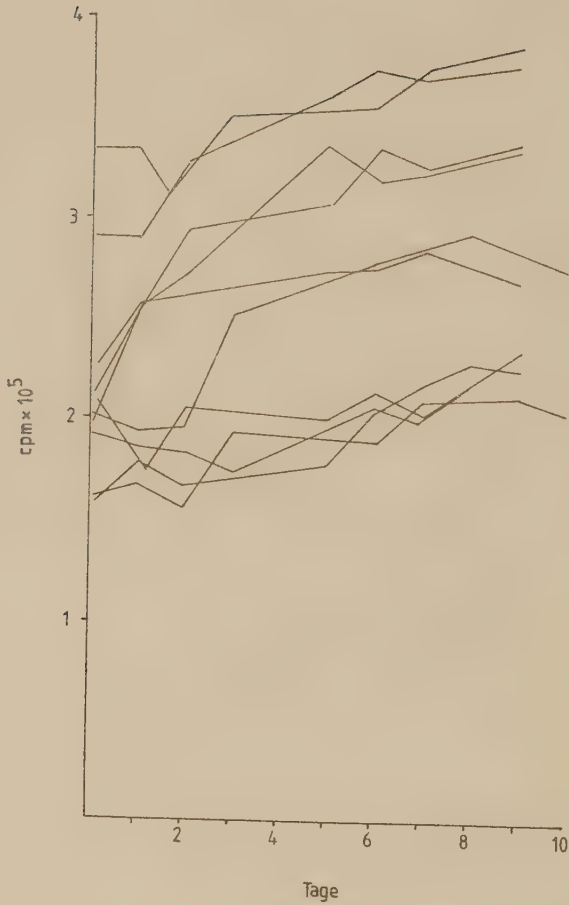


Abb. 10 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivität über der Milz (zerfallskorrigiert und standardisiert) nach Gabe ¹¹¹Indiummarkierter autologer Thrombozyten bei hämatologisch Gesunden (n=10)

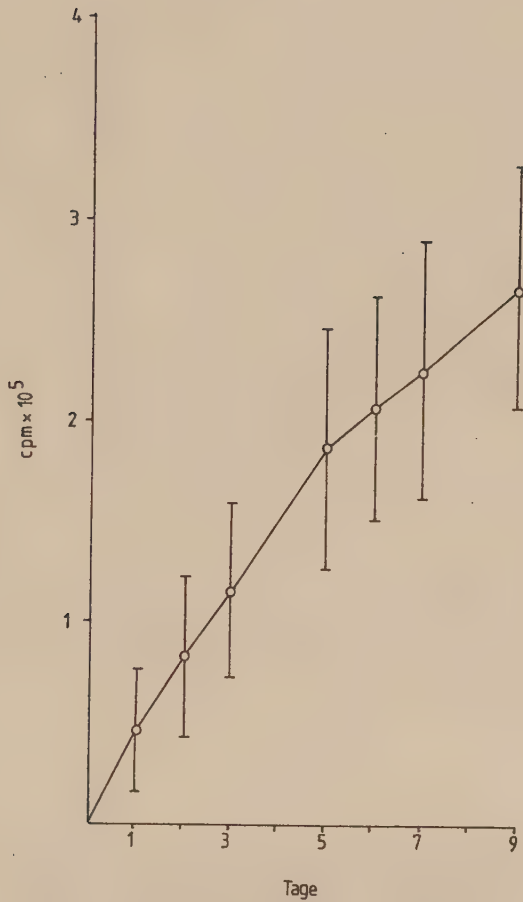


Abb. 11 Darstellung der Ergebnisse von Abb.10 (Milz) in sog. Überschußimpulsen (Mittelwert mit Standardabweichung, n=10)

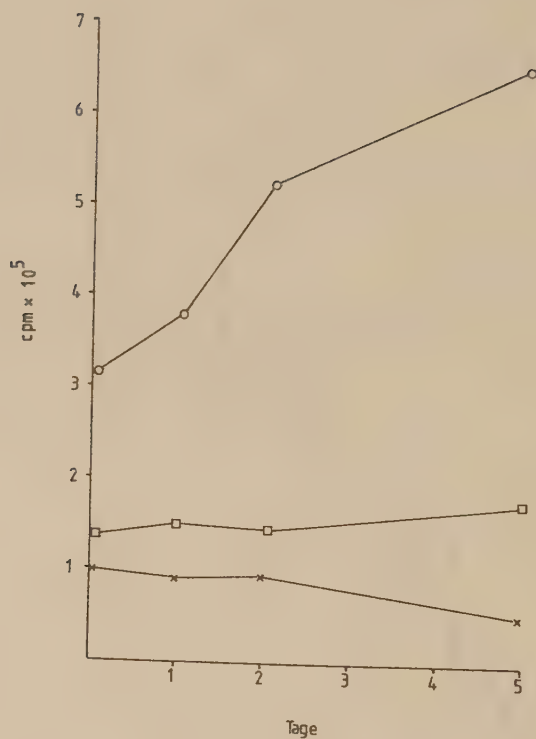


Abb. 12 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivitäten über den Organen Milz (O—O), Leber (□—□) und Herz (x—x), Pat. K.B.

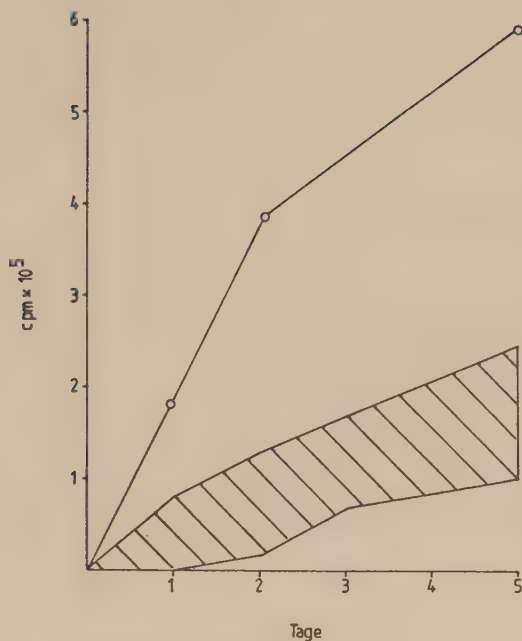


Abb. 13 Überschußimpulse der Milz, Pat. K.B.
(Schraffiert: Bereich des Normalkollektivs)

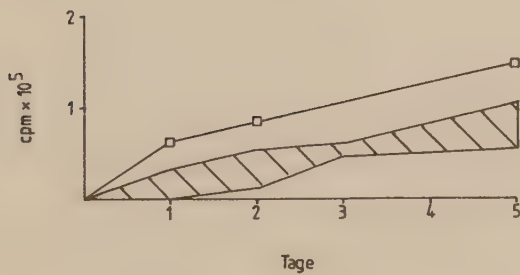


Abb. 14 Überschußimpulse der Leber, Pat. K.B.
(Schraffiert: Bereich des Normalkollektivs)

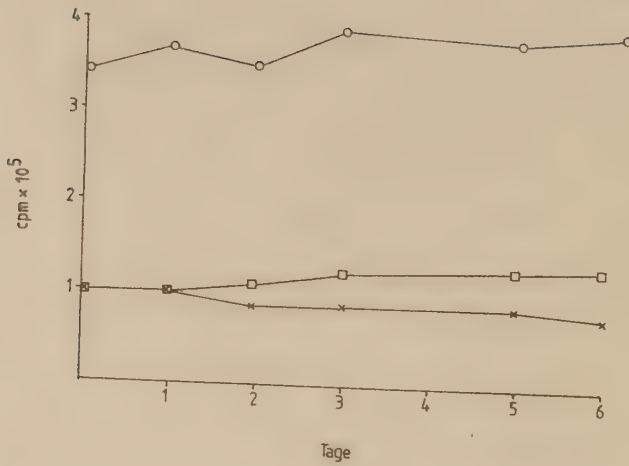


Abb. 15 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivitäten über den Organen Milz ($\circ$ — $\circ$), Leber ($\square$ — $\square$) und Herz ($\times$ — $\times$), Pat. A.W.

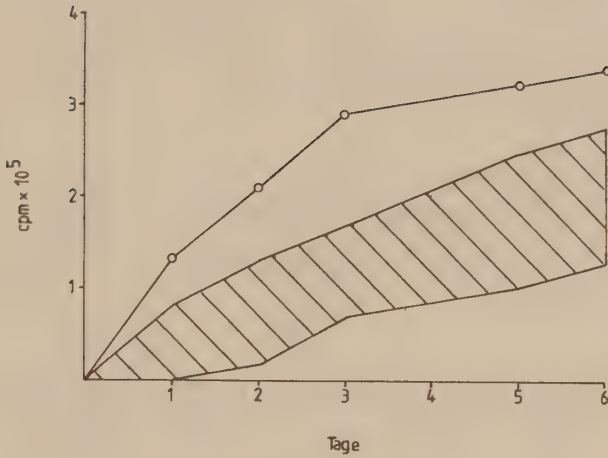


Abb. 16 Überschußimpulse der Milz, Pat. A.W.
(Schraffiert: Bereich des Normalkollektivs)

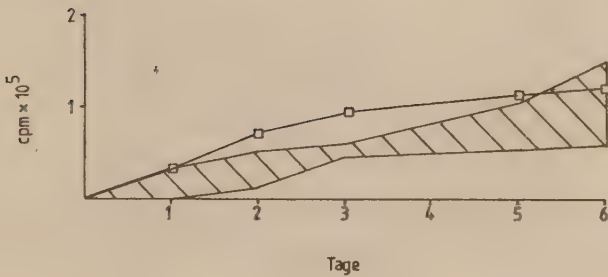


Abb. 17 Überschußimpulse der Leber, Pat. A.W.
(Schraffiert: Bereich des Normalkollektivs)

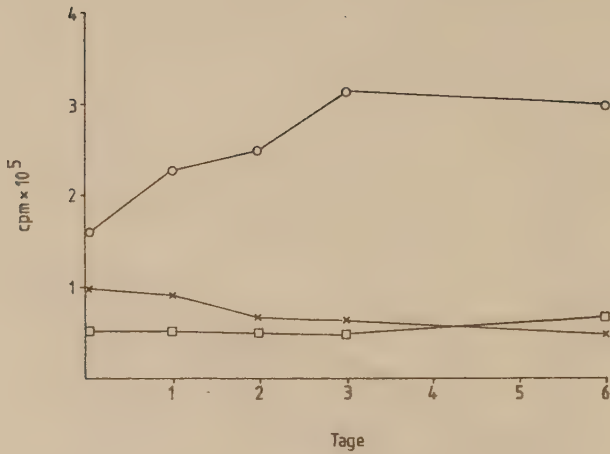


Abb. 18 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivitäten über den Organen Milz (○—○), Leber (□—□) und Herz (×—×), Pat. G.B.

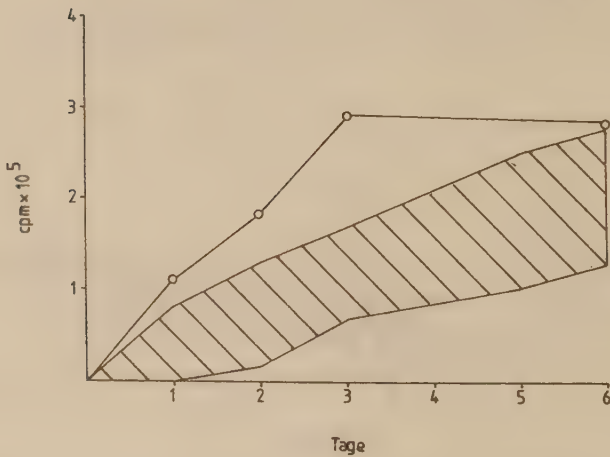


Abb. 19 Überschußimpulse der Milz, Pat. G.B.
(Schraffiert: Bereich des Normalkollektivs)

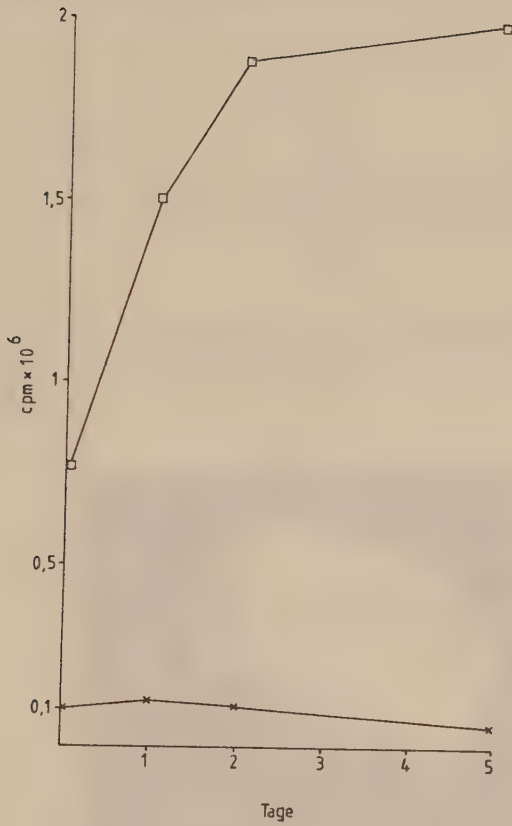


Abb. 20 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivitäten über den Organen Leber ($\square$ — $\square$), und Herz ($\times$ — $\times$), Pat. M.G.

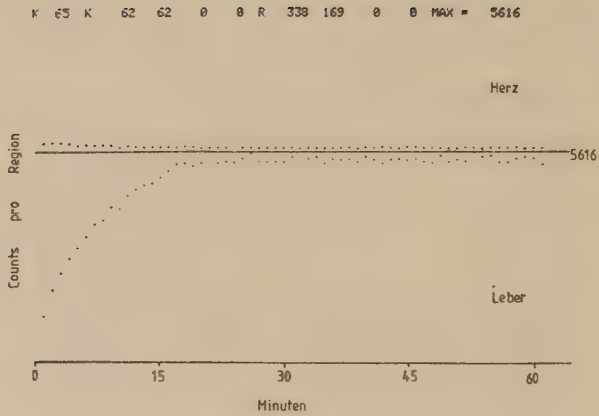


Abb. 21 Anfangsphase der Plättchenverteilung bei
Pat. M.G. (dynamische Szintigraphie)



Abb. 22 Szintigraphie aus ventraler Sicht, Darstellung
einer vergrößerten Leber und einer Nebennilz
(Pfeil), Pat. W.S.

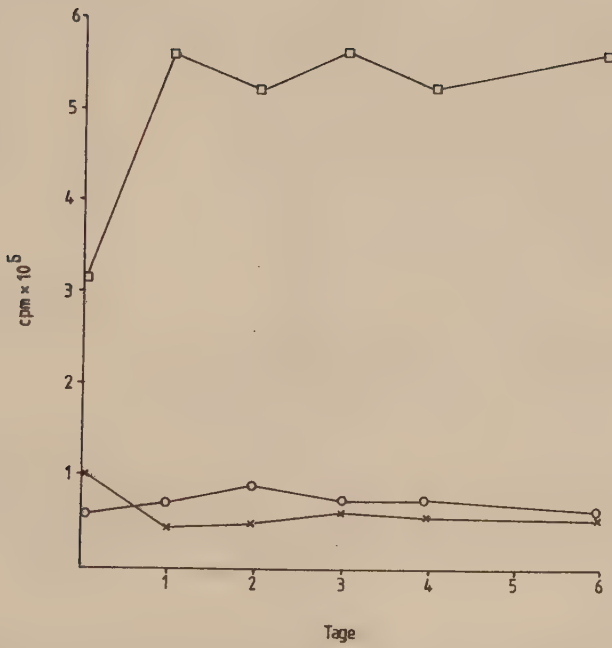


Abb. 23 Zeitabhängiges Verhalten der Oberflächenaktivitäten über den Organen Leber ($\square$ — $\square$), Herz ($\times$ — $\times$) und Nebenzmilz ($\circ$ — $\circ$), Pat.W.S.

7. BLEIFELD, W. Zur Pathogenese der Thrombozytopenie
beim Hypersplenismus
Dtsch. med. Wschr. 92 (47): 2149-
2154 (1967).

8. BITHELL, T.C. Radioactive Diisopropyl Fluoro-
ATHENS, J.W. phosphate as a Platelet Label:
CARTWRIGHT, G.E. An Evaluation of in Vitro and in
WINTROBE, M.M. Vivo Technics
Blood 29 (3): 354-372 (1967)

9. COONEY, D.P. The Use of ^{32}Di -Isopropylfluoro-
SMITH, B.A. phosphate (^{32}DFP) As A Platelet Label:
FAWLEY, D.E. Evidence for Reutilization of This
Isotope In Man
Blood 31 (6): 791-805 (1968)

10. DEUTSCH, E. Hämorrhagische Diathesen, in
Gross-Schölmerich, Lehrbuch der
Inneren Medizin
Schattauer, Stuttgart 1977

11. DEUTSCH, E. Pathogenese der Thrombozytopenien:
1. Bildungsstörungen, Umsatzstörungen
Fortschr. Med. 96 (12): 643-652
(1978)

12. DEUTSCH, E. Pathogenese der Thrombozytopenien:
2. Verteilungsstörungen, Pseudo-
Thrombozytopenien
Fortschr. Med. 96 (14): 761-762
(1978).

13. DEWANJEE, M.K.
FUSTER, V.
KAYE, M.
JOSA, M.
Imaging Platelet Deposition With
 ^{111}In -Labeled Platelets in Coronary
Artery Bypass Grafts in Dogs
Mayo Clin. Proc. 53: 327-331 (1978)

14. EMRICH, D.
Nuklearmedizin
Funktionsdiagnostik und Therapie
Thieme, Stuttgart 1979

15. FIRKIN, B.G.
WILLIAMS, W.J.
The Incorporation of Radioactive
Phosphorus into the Phospholipids
of Human Leukemic Leukocytes and
Platelets
J. clin. Invest. 40: 423-432 (1961)

16. GEHRMANN, G.
Milz und normaler Thrombozytenhaus-
halt, in
Die Milz
Springer, Berlin 1970

17. GEHRMANN, G.
Thrombozytenkinetik und Splenektomie
Blut 25 (4): 229-233 (1972)

18. GOODWIN, D.A.
BUSHBERG, J.T.
DOHERTY, P.W.
LIPTON, M.J.
CONLEY, F.K.
DIAMANTI, C.I.
MEARES, C.F.
Indium-111-Labeled Autologous
Platelets for Location of Vaskular
Thrombi in Humans
J. Nucl. Med. 19: 626-634 (1978)

19. GROSSMAN, Z.D. Platelets labeled with Oxine Com-
 WISTON, B.W. plexes of Tc-99m and In-111. Part 2.
 MCAFEE, J.G. Localization of Experimentally In-
 SUBRAMANIAN, G. duced Vaskular Lesions
 THOMAS, F.D. J. Nucl. Med. 19: 488-491 (1978)
 HENDERSON, R.W.
 ROHNER, R.F.
 ROSKOPF, M.L.

20. GROSSMAN, C.M. Possible Errors in the Use of p^{32}
 KOHN, R. Orthophosphate for the Estimation of
 KOCH, R. Platelet Life Span
 Blood 22 (1): 9-18 (1963)

21. HAWKER, R.J. Indium (^{111}In)-labelled human
 HAWKER, L.M. platelets: optimal method
 WILKINSON, A.R. Clin. Science 58: 243-248 (1980)

22. HEATON, W.A. Indium-111: a New Radioactive Label
 DAVIS, H.H. for Studying Human Platelet Kinetics
 WELCH, M.J. Brit. J. Haemat. 42: 613-622 (1979)
 MATHIAS, M.J.
 JOIST, J.H.
 SHERMAN, L.A.
 SIEGEL, B.A.

23. DUP. HEYNS, A. Kinetics, Distribution and Sites of
 LÖTTER, M.G. Destruction of $^{111}\text{Indium}$ -labelled
 BADENHORST, P.N. Human Platelets
 VAN REENEN, O.R. Brit. J. Haemat. 44: 269-280 (1980)
 PIETERS, H.
 MINNAAR, P.C.
 RETIEF, F.P.

24. DUP. HEYNS, A.
LÖTTER, M.G.
BADENHORST, P.N.
VAN REENEN, O.
PIETERS, H.
MINNAAR, P.C.

Kinetics and Fate of $^{111}\text{Indium-Oxine}$
Labelled Blood Platelets in Asplenic
Subjects
Thromb. Haemost. 44 (2): 100-104
(1980)
25. DUP. HEYNS, A.
LÖTTER, M.G.
BADENHORST, P.N.
DE KOCK, F.
PIETERS, H.
HERBST, C.
REENEN, O.R.
KOTZE, H.
MINNAAR, P.C.

Kinetics and Sites of Destruction of
 $^{111}\text{Indium-Oxine}$ -Labeled Platelets in
Idiopathic Thrombocytopenic Purpura:
A Quantitative Study
Amer. J. Haemat. 12: 167-177 (1982)
26. HEYSSEL, R.M.

Determination of Human Platelet
Survival Utilizing C^{14} -Labeled
Serotonin
J. clin. Invest. 40: 2134-2143 (1961)
27. HEYSSEL, R.M.
SILVER, L.J.
WASSON, M.
BRILL, A.B.

The Relation of Blood Platelet
Survival and Distribution to ^{14}C -
Serotonin Distribution and Excretion
Blood 29 (3): 341-353 (1967)
28. INTERNATIONAL
COMITTEE FOR
STANDARDIZATION
IN HAEMATOLOGY

Standard Techniques for the Measure-
ment of Red-Cell and Plasmavolume
Brit. J. Haemat. 25: 801-814 (1973)
29. INTERNATIONAL
COMMITTEE FOR
STANDARDIZATION
IN HAEMATOLOGY

Recommended Methods for Radioisotope
Platelet Survival Studies
Blood 50 (6): 1137-1143 (1977)

30. KATTLOVE, H.E.
SPAET, T.H.
The Effect of Chromium on Platelet
Function In Vitro
Blood 35 (5): 659-668 (1970)

31. KLONIZAKIS, I.
PETERS, A.M.
FITZPATRICK, M.L.
KENSETT, M.J.
LEWIS, S.M.
LAVENDER, J.P.
Radionuclide Distribution following
Injection of $^{111}\text{Indium}$ -labelled
Platelets
Brit. J. Haemat. 46: 595-602 (1980)

32. KOTILAINEN, M.
Platelet Kinetics in Normal Subjects
and in Haematological Disorders
Scand. J. Haemat. Suppl. 5 (1969)

33. KROHN, K.A.
KNIGHT, L.C.
Radiopharmaceuticals for Thrombus
Detection: Selection, Preparation,
and Critical Evaluation
Sem. Nucl. Med. 7 (3): 219-228
(1977)

34. KUMMER, H.
BUCHER, U.
Thrombokinetik: Einführung und
klinische Anwendung
Schw. med. Wschr. 101 (42): 1520-
1524 (1971)

35. LAVENDER, J.P.
GOLDMAN, J.M.
ARNOT, R.N.
THAKUR, M.L.
Kinetics of indium-111 labelled lym-
phocytes in normal subjects and
patients with Hodgkin's disease
Brit. med. J. 2: 797-799 (1977)

36. LOHRMANN, H.-P.
Differentialdiagnose der Thrombo-
zytopenien
Dtsch. med. Wschr. 100 (48): 2492-
2499 (1975)

37. MARISS, P. Thrombozytäres System, in
Handbuch der Medizinischen Radio-
logie 15 (2)
Springer, Berlin 1978
38. MUELLER-ECKHARDT, C. Die Diagnose der idiopathischen
thrombozytopenischen Purpura
Dtsch. med. Wschr. 95 (46): 2339-
2344 (1970)
39. MUELLER-ECKHARDT, C. Die Diagnostik der Immunthrombozyto-
penien
Dtsch. med. Wschr. 103 (52): 2061-
2063 (1978)
40. PASTAKIA, B. ^{111}In -Labelled Platelets in the
Management of Idiopathic Thrombocyto-
penic Purpura
Mayo Clin. Proc. 53 (10): 686 (1978)
41. ROBERTSON, J.S. Distribution and Dosimetry of ^{111}In -
Labeled Platelets
DEWANJEE, M.K. Radiology 140: 169-176 (1981)
BROWN, M.L.
FUSTER, V.
CHESEBRO, J.H.
42. SCHEFFEL, U. Evaluation of Indium-111 as a New
MCINTYRE, P.A. High Photon Yield Gamma-Emitting
EVATT, B. "Physiological" Platelet Label
DVORNICKY, J.A. John Hopkins med. J. 140: 285-293
NATARAJAN, T.K. (1977)
BOLLING, D.R.
MURPHY, E.A.

48. THAKUR, M.L.
WELCH, M.J.
JOIST, J.H.
COLEMAN, R.E. Indium-111 Labeled Platelets:
Studies on Preparation and Evaluation
of in Vitro and in Vivo Functions
Thromb. Research 9: 345-357 (1976)
49. THAKUR, M.L.
COLEMAN, R.E.
MAYHALL, C.G.
WELCH, M.J. Preparation and Evaluation of ^{111}In -
Labeled Leukocytes as an Abscess
Imaging Agent in Dogs
Radiology 119: 731-732 (1976)
50. THAKUR, M.L.
COLEMAN, R.E.
WELCH, M.J. Indium-111-labeled leukocytes for the
localization of abscesses: Prepara-
tion, analysis, tissue distribution,
and comparison with gallium-67 ci-
trate in dogs
J. Lab. clin. Med. 89 (1):217-228
(1977)
51. THAKUR, M.L.
SEGAL, A.W.
LOUIS, L.
WELCH, M.J.
HOPKINS, J.
PETERS, T.J. Indium-111-Labeled Cellular Blood
Components: Mechanism of Labeling
and Intracellular Location in Human
Neutrophils
J. Nucl. Med. 18: 1020-1024 (1977)
52. THAKUR, M.L.
WALSH, L.
MALECH, H.L.
GOTTSCHALK, A. Indium-111-Labeled Human Platelets:
Improved Method, Efficacy and
Evaluation
J. Nucl. Med. 22: 381-385 (1981)
53. UCHIDA, T.
YASUNAGA, K.
KARIYONE, S.
WAKISAKA, G. Survival and Sequestration of ^{51}Cr -
and $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ -Labeled Platelets
J. Nucl. Med. 15 (9): 801-807
(1974)

54. WHITE, J.G. The dense bodies of human platelets.
Origin of serotonin storage particles from platelet granules
Amer. J. Path. 53: 791-808 (1968)

55. WISTON, B.W. Labeling of Platelets with Oxine
GROSSMAN, Z.D. Complexes of Tc-99m and In-111.
MCAFFEE, J.G. Part 1. In Vitro Studies and Survival
SUBRAMANIAN, G. in the Rabbit
HENDERSON, R.W. J. Nucl. Med. 19: 483-487 (1978)
ROSKOPF, M.L.

56. ZUM WINKEL, K. Nuklearmedizin
Springer, Berlin 1975

9.0. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Immo Hoppe danke ich sehr für das überlassene Thema und seine vielen Anregungen bei der Erstellung der Arbeit.

Weiter gilt mein Dank Herrn Dr. med. Cristof Kessler für seine Anleitung zur wissenschaftlichen Arbeit sowie Herrn Prof. Dr. med. Ulrich Haubold für die Beratung und das freundliche Entgegenkommen bei der Durchführung der Markierungsversuche im Isotopenlabor des Klinikums Charlottenburg.

10.0. Lebenslauf

Name: Thomas Kniffert
Geburtsdatum: 18. Oktober 1951
Geburtsort: Berlin-Zehlendorf
Eltern: Siegfried und Gertrud Kniffert, geb. Klatte

Ausbildungsgang:

1958-1964 Dreilinden-Schule, Berlin
1964-1972 Paul-Natorp-Gymnasium, Berlin
1972-1973 Studium der Chemie, Technische Universität und
Freie Universität Berlin
1973-1975 Studium der Veterinärmedizin,
Freie Universität Berlin
1975-1981 Studium der Medizin und Praktisches Jahr,
Freie Universität Berlin

Abgelegte Prüfungen:

März 1972 Abitur
Sept. 1974 Tierärztliche Vorprüfung
März 1977 Ärztliche Vorprüfung
März 1978 Ärztliche Prüfung, I. Teil
Aug. 1980 Ärztliche Prüfung, II. Teil
Okt. 1981 Ärztliche Prüfung, III. Teil (schriftlich)
Dez. 1981 Ärztliche Prüfung, III. Teil (mündlich)

Approbation: 11. Dezember 1981

Berufstätigkeit: Seit April 1982 Assistenzarzt in der Strahlen-
klinik und Poliklinik im Klinikum Charlotten-
burg der Freien Universität Berlin



D. Hansen & K. Höpfer GbR

DISSERTATIONSDRUCK

Pestalozzistraße 106 (Ecke Bleibtreustraße)
Telefon 312 50 93 und 312 50 94